

## 8. タンパク質の電気泳動 (SDS-PAGE)

担当：土屋（神川・宮下）

界面活性剤である SDS の存在下で、さまざまなタンパク質を電気泳動で分離し、各サンプル間でのタンパク質組成の違いを調べる。

### ①準備するもの

1. アクリルアミドゲル
2. 電気泳動用サンプル緩衝液
3. 電気泳動用緩衝液
4. 電気泳動槽
5. 電源
6. 染色用容器
7. 染色液
8. 脱色液
9. タンパク質抽出用緩衝液
10. タンパク質含有サンプル（複数種類）
11. ラップ
12. 定規

### ②実験操作

1. 所定の量のタンパク質含有サンプルを 1.5 ml マイクロチューブに移し、1 ml タンパク質抽出用緩衝液を加えてよく混ぜる。
2. タンパク質抽出液を加えた 1.5 ml マイクロチューブを遠心する（15,000 rpm, 1 min, 4°C）。
3. 遠心した上清をサンプルとし、一部を 1 本ずつ 1.5 ml マイクロチューブに移し、等量の電気泳動用サンプル緩衝液を加える。
4. 電気泳動槽の下部に泳動用緩衝液を電極の位置まで加え、ゲル板を電気泳動槽に入れる。
5. 上部の電極側にも泳動用緩衝液を上限まで加え、コームをはずす。
6. ウェルの形を整え、ピペッティングによりウェル内を泳動用緩衝液で洗った後、各サンプルを順にゲルローディングチップを用いて添加する（順番などは、実習時に指示する）。
7. 泳動槽の蓋をしてから電源につなぎ、定電圧で泳動を開始する。
8. 色素がゲルの下部まで移動したところで泳動を終了する。
9. 泳動後のゲルは、素手でさわらないように注意しながら染色液の入った染色用容器に移し、電子レンジで加熱する（CBB 染色）。
10. 染色液を所定のボトルに移した後、脱色液を加えてさらに電子レンジで加熱する（キムワイプを 2 枚入れて色素を吸着させる）。
11. ゲルのバックグラウンドが下がったら、脱色液を所定のボトルに移し、水で洗う。

12. ゲルをラップで挟み、マーカーおよび目的とするタンパク質のバンドのウェル下端からの移動度を定規で測る。
13. CBB 染色の結果より、各サンプルのタンパク質の量と組成を比較する。

SDS-PAGE のマーカーの分子量

	分子量
Phosphorylase b	97,000
Albumin	66,000
Ovalbumin	45,000
Carbonic anhydrase	30,000
Trypsin inhibitor	20,100
$\alpha$ -Lactalbumin	14,400

※マーカーには、分子量が既知である 6 種類のタンパク質が含まれている。

実習の具体的な手順、課題などについては、実習時に説明する。