ATTO Presents

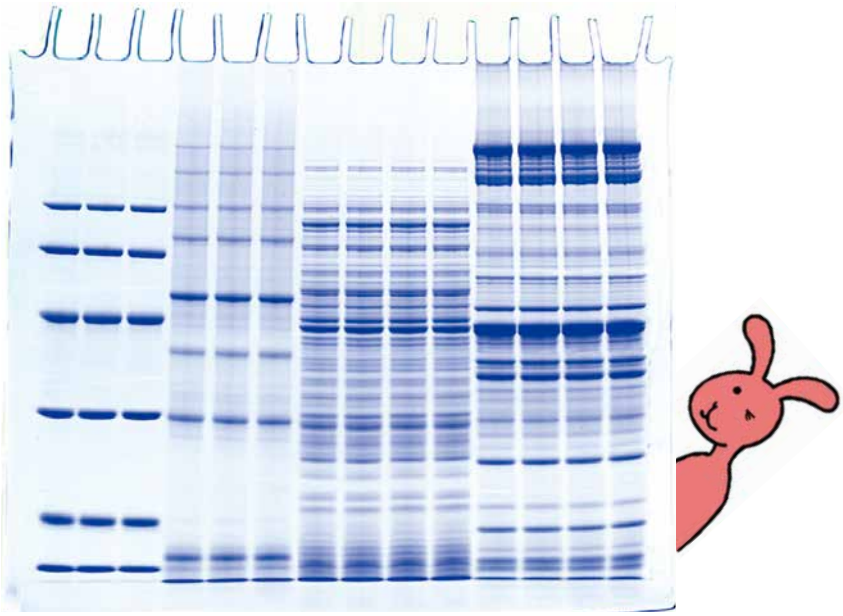
「初めての電気泳動」

タンパク質のポリアクリルアミドゲル電気泳動

PAGE（Polyacrylamide gel Electrophoresis）

2025 年 10 月価格改定版

Preliminary Guidance To Beginners For Utilization of PAGE, A Powerful Separation Mehtod To Analyze Bio Substances.



電気泳動と 61 年

ATTO SupportingLifeResearch

目 次

1．電気泳動

原理　　種類　　歴史

2．電気泳動の操作

一般的なゲル電気泳動操作の流れ

3．ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）

ポリアクリルアミドゲル　種類

4．SDS-PAGE（Laemmli 法）

SDS 電気泳動　　試料調製

5．緩衝液

緩衝液

6．通電条件

通電条件

7．検出

染色　　検出

8．解析・保存

解析　　保存

※　安全性

9．実践

電気泳動実践

10．トラブルシューティング（電気泳動のコツ）

ゲルがうまくできない

スマイリング？

泳動ができない、時間がいつもと違う

バンドがシャープにならない、形が変、縦筋が入る

余計なバンドが出る

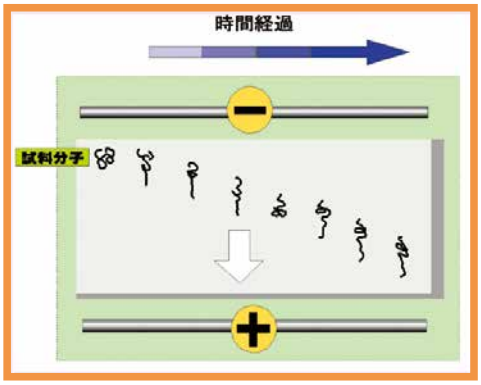
バックグラウンドがムラ、高い

11.　電気泳動製品紹介

さあ電気泳動をはじめましょう！

1. 電気泳動

原 理



電気泳動とは、**「溶液中の荷電物質が電場のもとで移動する現象」**を言います。

ここで言う荷電物質は緩衝液成分を除くペプチド・タンパク質・核酸（ＤＮＡ・ＲＮＡ）、糖、金属など、水溶液中で＋又は－の荷電を持つ物のことで、いわゆる電気泳動の試料です。ただし水溶液中では試料が拡散してしまうため支持体として膜やゲルを用い、これらの中を荷電物質（試料）が移動していく現象を利用するのがほとんどです。支持体（膜･ゲル）中の試料は､直流電場下で､その性質（形や荷電状態や分子量等）に応じて自分の電荷と反対の電極へ向かって移動します。その際の移動速度が物質によって異なることで試料の各成分が分離されるのです。

支持体でよく利用されるアガロースゲル又はポリアクリルアミドゲルは網目状立体構造をもち、試料に対し分子ふるいの役割をはたします。小さな物質は速く、大きな物質は遅く移動し、分子量に応じた分離が可能です。この時移動距離と分子量はほぼ反比例するので､電気泳動を用いて分子量の決定も可能になります。また分子ふるいをかけずに荷電状態や形状に応じた分離方法もあります。この様な要因をいろいろ組み合わせて試料中の各成分を分離することが出来ます。

電気泳動は上記の分離原理を利用して分子量決定をはじめ等電点や純度決定、各成分の比較・定量・精製確認等に利用され、タンパク質や核酸の主たる分離・分析法となっています。

種 類

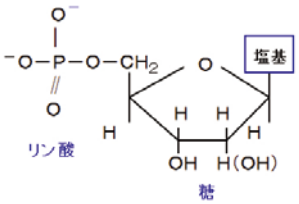
試料	ポリペプチド、タンパク質、糖タンパク質、リポタンパク質、ヌクレオチド、核酸（DNA、RNA）、糖、金属
支持体	ろ紙、セルロースアセテート膜、ポリアクリルアミドゲル、アガロースゲル、寒天、ポリマー
形態・方法	ディスクゲル電気泳動、スラブゲル電気泳動、サブマリン電気泳動、等電点電気泳動、二次元電気泳動、キャピラリー電気泳動、チップ電気泳動

参 考

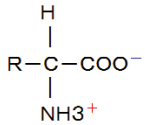
核酸、タンパク質の構造と大きさ

核酸はリン酸残基で常にマイナス（－）の荷電を持ちますが、タンパク質はアミノ酸の種類や環境（周りの pH）によって（＋）にも（－）にもなります。従って電気泳動では基本的に核酸は陽極（＋）に向かって移動（泳動）しますが、タンパク質は条件や泳動方法によって陽極（＋）にも陰極（－）にも移動（泳動）します。

「遺伝子」核酸（DNA、RNA）－ヌクレオチド



「酵素・タンパク」タンパク質－ペプチド－アミノ酸



アミノ酸の化学式

環境によって＋にも－にも荷電する　等電点をもつ

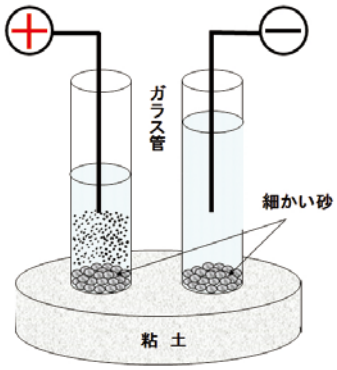
核酸、タンパク質の大きさ　約２~10nm、10^3~10^9 の分子量

歴 史（黎明期）

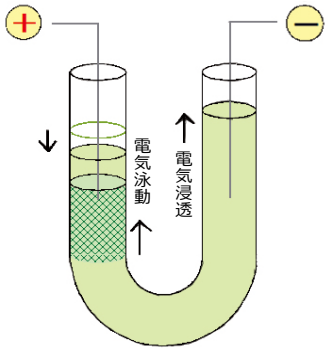
電気泳動の始まりは、1807 年 Alexander Reuss（ソビエト現ロシアの物理学者）の実験と言われています。湿った粘土の塊に 2 本のガラス管を立て水を満たしたところに直流電流を流すと、微細な粘土粒子が陽極へ移動して白濁し、陰極は体積が増加する現象を観察した、との報告があるそうです。粒子の移動が電気泳動で、水の移動が電気浸透です。どうも金の回収に関連していたようで、電気泳動の創始が Gold ラッシュと関係していたというのは驚きです。

電気泳動が生化学分野に利用されたのは 1892 年 、Picton と Linder がヘモグロビンを試料とした実験を報告しています。これがタンパク質の電気泳動の最初になるようです。もちろんその後もいろいろ報告・論文はあるのですが、生化学分野に電気泳動を定着・発展させたのが Tiselius（スウェーデン）と言われています。1929 年の実験ノートにはU字管内の対流を防ぐ為に溶液に寒天やゼラチンを入れフィコシアニン等の有色タンパク質の分離を確認し、1937 年の論文では血清タンパク質を分析しアルブミンと 3 種のグロブリンを分離した、との報告をしています。1949 年 日本でも Tiselius 電気泳動装置が日立製作所から製品化され発売されました。これによりタンパク質の研究が盛んになっていきます。

ポリアクリルアミドゲル電気泳動については LeonardOrnstein が立役者と言われています。当初は顕微鏡用の包埋剤としてポリアクリルアミドゲルを考えていたようですが、デンプンゲル電気泳動のゲルが弱く不透明で再現性も悪かったのを見てその利用を思いついたようです。Ornstein はトリス - 塩酸中でのタンパク質試料の濃縮や分離に関する理論を提唱し、Davis は実際に電気泳動装置を作り血清タンパク質を鮮明に分離しました。さらに SDS-PAGE については、Summers らが当時既にタンパク質の解離剤・変性剤として研究・利用されていた SDS（Sodium dodecyl-sulfate）で調製した試料を、ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかける際に緩衝液にも SDS を加え、タンパク質を分離した論文があります。1967 年に Shapiro らがタンパク質の分子量と相対移動度の間の相関を示唆し、1969 年には Weber と Osborn がタンパク質の分子量の対数と相対移動度に直線関係があり、移動度から推定した分子量が実際の値とほとんど差がないことを示しました。こうしていくつものグループが同様な手法を考案し、理論的な検証も進みさらに有用な手法となっていきます。ちなみに現在では SDS-PAGE と言えば Laemmli 法をさすことが多く（分解能が高い優れた方法だからです）、論文名はよく引用されますが、Laemmli の論文中では SDS－PAGE は図の説明文としての記載があるにすぎませんし、方法も Ornstein-Davis の緩衝液系に SDS を加えただけです。



Reuss の実験のイメージ図



Tiselius の U 字管のイメージ図

Laemmli U. K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, Nature, vol. 227, no. 5259, 680-685(1970)

※「電気泳動の歴史」高木俊夫著　バイオサイエンス最前線 `97 増刊号　アトー株式会社

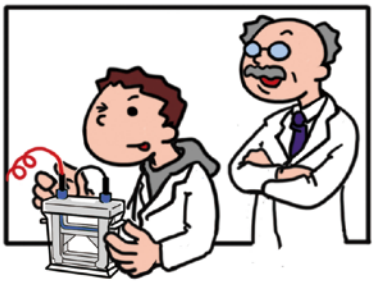
2. 電気泳動の操作

以下に一般的な電気泳動の操作を示します。詳細は試料や泳動方法、検出方法によって異なりますが、早い場合で約 10 分、泳動や検出に時間を要する場合には 1 日以上かかることもあります。

一般的なゲル電気泳動全般の操作の流れ

①試薬・試料の準備
↓ 試料、泳動用緩衝液、ゲル用ストック液等を準備する
②泳動用ゲルの準備
↓ 目的とする試料の分子量によりゲル濃度を決定しゲルを作製する
　または既製ゲルを用意する
③試料前処理
↓ 試料を完全に溶解する。比重をつける
　場合によって、加熱・還元・SDS 添加・遠心などを実施する
④試料添加
↓ ゲルを泳動槽に設置し試料を添加する
⑤泳動（通電）
↓ 泳動槽を電源装置に接続し適当な時間出力する
⑥染色
↓ 電気泳動終了後、ゲルを染色液に浸し試料成分の染色を行なう
⑦脱色
↓ 試料成分と結合しない余分な染色剤を洗い落とす
⑧検出（可視化）
↓ 色素染色、発色の場合には成分が目で見える
　または 蛍光色素染色の場合は紫外線や LED を照射し検出する
⑨保存
↓ 乾燥器でゲルを乾燥させフィルム状にし、保存する
↓ ゲル撮影装置やカメラ、スキャナーで写真に撮る又はコンピューターに取込む
⑩解析
　データから内容を解析する

他、泳動後**ブロッティング**（膜へ転写）して特異的検出を行なう方法、
ゲルから成分（分離された試料）を**回収**する方法等もある。

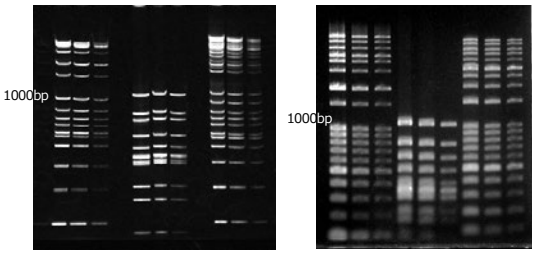


3. ポリアクリルアミドゲル電気泳動

最も一般的な電気泳動はタンパク質や核酸のポリアクリルアミドゲル電気泳動およびアガロースゲル電気泳動です。ゲルは３次元の高分子ポリマーで網目構造により分子篩ふるい効果があるのが特徴です。ポリアクリルアミドゲルとアガロースゲルの違い（使い分け）は網目の孔の大きさ（ポアサイズ）で、主にポリアクリルアミドゲルは小さく低分子量用、アガロースゲルは大きく高分子量用と考えて良いでしょう。例えば核酸（ＤＮＡ）で１～1000bp の大きさにはポリアクリルアミドゲルを使用し、約 1000bp 以上の大きさにはアガロースゲルを使用するのが定法です。又タンパク質は、数百 Da ぐらいのペプチドから数十ｋ Da のタンパク質（多くのタンパク質はこの範囲に含まれる）であればポリアクリルアミドゲル電気泳動で対応可能です。

以下、ポリアクリルアミドゲルについてご説明しましょう。

DNA の電気泳動例

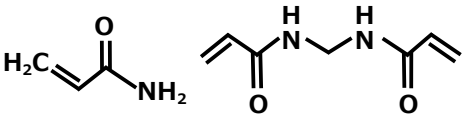


ポリアクリルアミドゲル　　アガロースゲル

ポリアクリルアミドゲルでは低分子領域のバンドはシャープにきれいに分離しています。

ポリアクリルアミドゲル

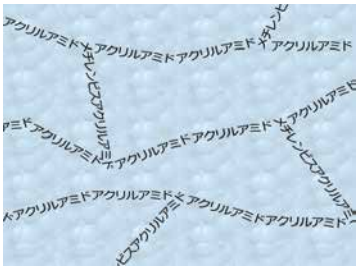
ポリアクリルアミドゲル Polyacrylamide gel はアクリルアミドとＮ，Ｎ'- メチレンビスアクリルアミド（Bis）の重合体です。アクリルアミドだけでは直鎖状につながっていくだけですが、Ｂｉｓを加えるとこれが架橋の役割を果たし網目（三次元）構造を持った重合体（ゲル）となるのです。ちなみにゲル作製（重合）時に一緒に加える過硫酸アンモニム（APS）は重合開始剤、ＴＥＭＥＤ（N,N,N',N'- ﾃﾄﾗﾒﾁﾙｴﾁﾚﾝｼﾞｱﾐﾝ）は重合促進剤です。電気泳動支持体としてのポリアクリルアミドゲルは、分解・分離能が高く、無色透明、耐薬性（強アルカリ・酸や変性剤の共存可能）、試料の吸着が無い、ポアサイズ（＝分子ふるい効果）が調整できる、強度がある、高純度･安価な試薬、乾燥･保存出来る等の特長を備えています。ただし重合前のアクリルアミド（アクリルアミドのモノマー）は**神経毒**なので取り扱いには注意してください。重合体には毒性が無いと言われているので、余った溶液等は固めて破棄することをお勧めします。近年では法規制も厳しくなっていますので既製ゲル（プレキャストゲル ATTO パジェルシリーズ）の利用もお勧めします。※次頁参照



アクリルアミド　　ビスアクリルアミド

過硫酸アンモニウム（APS）　重合開始剤
TEMED　重合促進剤

ポリアクリルアミドゲル模式図



ゲル濃度　Ｔ％＝（アクリルアミド＋Bis）／溶液×100（W/V）
架橋度　　C%= Bis／（アクリルアミド＋Bis）×100（W/W）

電気泳動の場合、アクリルアミドとＢｉｓの総和をゲル濃度（アクリルアミド濃度 T%）と言い、通常３～２０％の範囲で利用されます。おおよそゲル濃度が高くなればポア（網目の穴径）が小さくなるので分子量の小さい試料が対象となります。（実際にはゲル濃度 T%と架橋度 C% でポアサイズが決まります）つまり分離したい試料の分子量に応じて適切なゲル濃度を選択することが大事です。試料の分子量がわからなかったり、広範囲にわたって分離したい時には５～２０％の様なグラディエント（濃度勾配）ゲルの利用法もあります。尚、一度作製したゲルは一日以上は置かないでください。（特に濃縮ゲルを作製した場合は放置不可）長時間のアルカリ性条件下ではポリアクリルアミドは分解が起こり、生じたアクリル酸のカルボキシル基が泳動に影響を及ぼします。他、**酸素**（空気）の存在はゲル化を阻害すること、**温度**が低いとゲル化しにくいこと等は基本的な性質として覚えておいてください。

※「10．電気泳動のコツ」参照

種 類

電気泳動の原理や目的、形態などから種類を分けることが出来ますが、ここでは DNA とタンパク質の電気泳動、について簡単にご紹介します。

DNA は構造がシンプルなことから泳動方法もそれほど複雑ではありません。左記のとおりポリアクリルアミドとアガロースゲルは試料の分子量によって使い分けます。PCR 産物や遺伝子の発現・組換え時の確認の他 RFLP、SSCP などに利用されます。ゲル電気泳動ではありませんが、塩基配列を決める泳動は現在はほとんどがキャピラリー式のシーケンサーになっています。また、全自動化もしやすいのでチップ電気泳動などの装置もあります。

タンパク質のポリアクリルアミドゲル電気泳動には多くの種類があります。形から大別するとディスク型（ゲル in ガラス管）、スラブ（垂直）型（ゲル in ガラス板）、水平型等があり電気泳動に応じて使い分けます。方法では分子量サイズで分けるＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）、等電点で分ける等電点電気泳動（ＩＥＦ）、二つの要因（例えば上記の分子量サイズと等電点）で二次元に展開する二次元電気泳動、なるべくタンパク質を変性させないまま分離する native-PAGE 等があります。

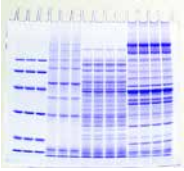
ディスク型	ガラス管の中にゲルを作製して泳動します。 試料／ゲルが１本づつ独立しています。
スラブ型	ガラス板の間にゲルを作製して立てて（垂直に）泳動します。ゲル上端に溝（ウェル）を作って試料をアプライするので、各泳動パターンの比較がしやすいです。
水平型	ゲルを寝かせて置き泳動します。柔らかいゲルでも可能で、形状はスリット状のものや平板状のもの等があります。

ゲル
（IEF）

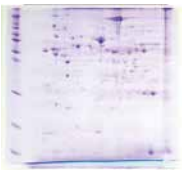
ディスク型電気泳動装置例

スラブ（垂直）型電気泳動装置例

ＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）	試料の分子量サイズで分けます
等電点電気泳動（IEF）	試料の等電点の違いで分けます
二次元電気泳動（２D）	二つの要因（例えば分子量サイズと等電点）で二次元に展開します
ネイティブ電気泳動（Native PAGE）	なるべくタンパク質を変性させないまま分離します



ゲル
（SDS-PAGE）



ゲル
（二次元電気泳動）

参 考

※ アクリルアミド　法規制一覧

「アクリルアミド」は下記法規制等の対象物質に指定されています。　**注** ポリアクリルアミドではありません
詳細は各省庁の Web サイトで確認ください。　既製ゲルは非該当です
例　環境省　化学物質情報検索支援システム　ケミココ　http://www.chemicoco.env.go.jp

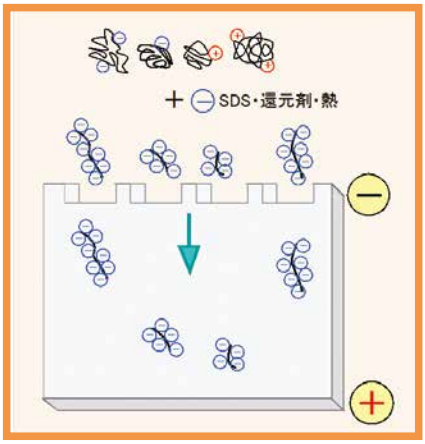
化学物質審査規制法（化審法）：優先評価化学物質、
化学物質排出把握管理促進法（化管法・ＰＲＴＲ法）：第１種指定化学物質
毒物及び劇物取締法（毒劇法）：劇物　指 1-3
労働安全衛生法、労働基準法、消防法、道路法、船舶安全法、航空法、水質汚濁防止法、大気汚染防止法、輸出貿易管理令

4.SDS 電気泳動（Laemmli 法）

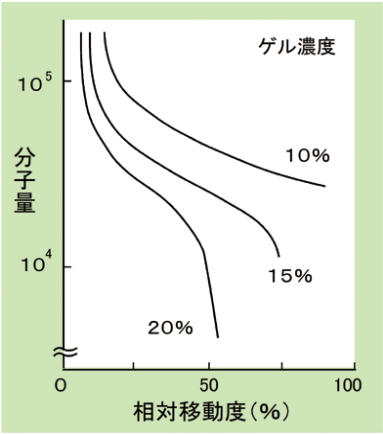
ポリアクリルアミドゲル電気泳動と言えばタンパク質を対象としたものがほとんどで、その中でも最も一般的なものが SDS-PAGE（SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 Polyacrylamide gel Electrophoresis）という手法です。

SDS 電気泳動（SDS-PAGE）

ＳＤＳはドデシル硫酸ナトリウム（ $CH_3(CH_2)11OSO_3Na$ ）の略で陰イオン性界面活性剤の一種です。タンパク質の可溶化剤として利用され、タンパク質の電気泳動では SDS-PAGE（SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 Polyacrylamide gel Electrophoresis）という最も一般的な手法に用いられます。SDS はタンパク質に疎水相互作用的に結合する他ミセルを形成する事もあり、その結合量はポリペプチド鎖（タンパク質）１に対して**1.2～1.5**と言われています。タンパク質は構成アミノ酸や pH 環境により（＋－）どちらにも荷電（2 頁参考）しますが、SDS が結合（SDS 処理）することでその電荷を打ち消し一過性に（－）荷電を持たせて、全ての分子を陽極側へ移動させることが可能となります。その際、ゲルの網目構造によりほぼ分子量の大きさで各々のタンパク質を分離することができます。分子量既知のタンパク質（＝分子量マーカー）と試料を同一ゲル上で泳動し､泳動（検出）後に分子量マーカーの各バンドの移動度を測り、縦軸に分子量を指数関数に、横軸にタンパク質の移動度をとったグラフ＝検量線を作製し（右図参照）、未知のタンパク質の分子量推定が可能です。



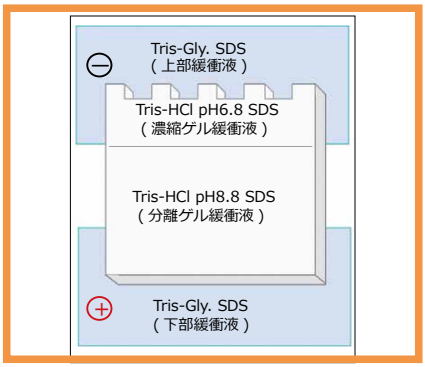
SDS-PAGE　イメージ図



検量線

この SDS-PAGE にも多くの種類がありますが、現在最も多く利用されているのが Laemmli の方法です。Laemmli 法は、実際に分離を行なうゲルの上に濃縮ゲルを作製し､塩化物イオン（Cl-）とグリシネートイオンを利用して試料を濃縮する為バンドがシャープになるのが特長です。ゲル中はトリス - 塩酸（Tris-HCl）、泳動用緩衝液はトリス - グリシン（Tris-Gly.）を用い SDS 存在下で泳動を行ないます。※緩衝液の項参照

この様に分子量に応じた分離が可能であり、バンドがシャープで分離能が高く､電気泳動（PAGE）の特長でもある簡単･短時間･省スペース・低コストなどと合わせて、タンパク質の基本的分離能・分析法となっています。



Laemmli 法の緩衝液系

<おまけ>
タンパク質固有の等電点（pI）で分けるのが等電点電気泳動（IFE）、未変性の状態で固有の電荷や形態・分子量で分けるのが Native -PAGE と言われるものです。

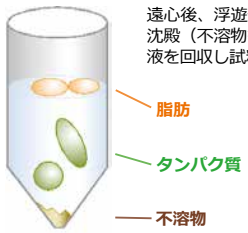
試 料

電気泳動の大前提として試料は溶解して (電荷を持って電場では水溶液中を動けるような状態で) いなければなりません。物理的にすり潰したり（ホモジェナイズ）、SDS のような界面活性剤、場合によっては尿素のような変性剤などを利用してタンパク質を水溶液中に抽出します。この時塩濃度や界面活性剤濃度などが高過ぎると電気泳動に影響するので注意しましょう。また不溶物が残っていると電気泳動パターンが汚くなるので遠心をして上澄みを使用します。試料溶液の組成は電気泳動パターンに影響を及ぼすのでなるべく余計なものは入っていないのが理想です。

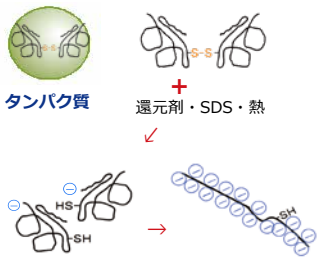
SDS-PAGE ではタンパク質に SDS を結合させる SDS 処理を実施します。SDS 処理は通常 2- メルカプトエタノールや DTT のような還元剤を一緒に入れてタンパク質の -S-S- 結合を切り、加熱で立体構造（水素結合）をほどいて、SDS をタンパク質に結合させる方法をとります。試料溶液と SDS 溶液（試料処理液）を混合した後加熱 2 ～ 3 分が一般的です。移動度は立体構造にも影響されるので、なるべく直鎖状にして分子量要因での分離をするようにします。**還元剤**は DTT のほうが還元力が強く臭い匂いもなく毒劇物指定品ではないのでお勧めです。また、非還元状態でのタンパク質を試料とする場合には還元剤を含まない SDS 溶液を使用します。SDS は可溶化剤としても働きますが、試料が完全に溶解していないようであれば遠心後の上澄みを使用します。

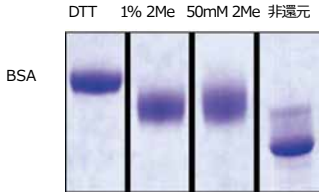
試料の**保存**方法は、SDS 処理の前後に関わらず一般的には冷凍下で保存しますが、再融解・冷凍の繰返しは試料の分解等を招くのでお勧め出来ません。必要であれば分注して保存しておきましょう。それでも還元処理した試料溶液を長期保存しておくと再酸化がされて還元が不十分な状況と同じになりますので注意してください。

試料の状態



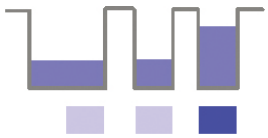
SDS 処理





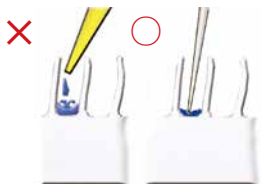
還元反応が不十分だと泳動した際のバンドはシャープさに欠けたり移動度が変わってしまう

アプライ用試料溶液のタンパク質の**濃度**は 1 mg/mL くらいが目安です。例えばこれを 10 μ L ／ウェルアプライして電気泳動後 CBB 染色で検出すると、バンドが見える、ということです。従って試料溶液濃度（タンパク質量）は検出方法の感度によって必要量が変わってきます。CBB 染色より高感度な銀染色やウエスタンブロットによる検出であれば 1/10 くらい（0.1mg/nL）でも大丈夫、ということです。「7. 検出」も参照ください。ちなみに、試料溶液のタンパク質濃度が薄いので大量にアプライしようと 10 μ L アプライしていたのを 20 μ L にするのは良いのですが、ウェル幅を広くして（横に広げて）量を増やしても単位面積あたりのタンパク質量は変わりませのので、バンドは濃くなりません。ご注意ください。また出来れば先細チップやシリンジを用いてウェル底まで先端が届くようよにして丁寧にアプライしてあげるのが理想です。



ウェル幅を広くして（横に広げて）量を増やしても単位面積あたりのタンパク質量は変わりませのので、バンドは濃くなりません

高さ方向（又は厚み方向）に量を増やせば単位面積あたりのタンパク質量は濃くなります

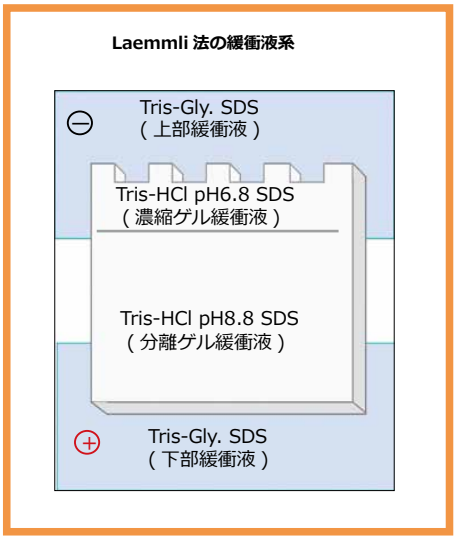


5. 緩衝液

緩衝液

試料や泳動方法によって使用される緩衝液は様々です。（等電点電気泳動では緩衝液 buffer は使いません。）タンパク質のポリアクリルアミドゲル電気泳動ではリン酸緩衝液系やトリス緩衝液系が多く用いられます。SDS-PAGE の Weber – Osborn 法はリン酸緩衝液、Laemmli 法や Schgger の方法ではトリス緩衝液系で、いずれもアルカリ性条件下です。

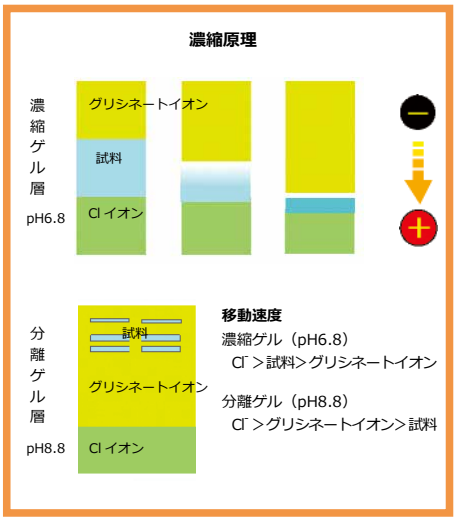
最もよく利用される Laemmli 法は、ゲル中はトリス - 塩酸（Tris-HCl）、泳動用緩衝液はトリス - グリシン（Tris-Gly.）の緩衝液を用います。特長は濃縮ゲル層があって、ゲル濃度差やクロ－ルイオン（Cl^-）とグリシネートイオンの移動度の差を利用して試料を濃縮し、結果としてシャープなバンドを得ることができます。従って、泳動用緩衝液に p H を合わせようと塩酸（Cl^-）を加えたり、一度使用した泳動用緩衝液を再度使用したりするとイオン系がおかしくなり泳動パターン（結果）に影響を及ぼす事があるので、この様な事はしないでください。また、緩衝液の調製や希釈の際に濃度を間違えたりすると泳動パターンが乱れたり、泳動時間が早くなったり遅くなったりすることがあります。念の為通電時の電流値、電圧値、泳動時間等はメモしておくことをお勧めします。



※濃縮の原理

泳動緩衝液中（トリス - グリシン）のグリシネートイオンは通電が始まると＋陽極へ移動し始めます。濃縮ゲルに入ってくるとその pH6.8 環境下ではマイナス電荷が少なくなり速度が遅くなります。ゲル中の Cl^-と試料（タンパク質）も＋陽極へ移動しますがグリシネートイオンがゆっくりなのでイオンの涸渇から電圧がかかり、試料層が押されて濃縮されます。さらに進んで分離ゲル層 pH8.8 に入ると、グリシネートイオンはマイナス電荷が多くなり速度が速くなって試料層を追い越します。すると試料は Cl^-とグリシネートイオンのサンドイッチから解放されて、試料はゲル中を分子篩ふるい効果を受けながら進んで行きます。

通常、濃縮層は分子ふるい効果を受けないようにゲル濃度を低くしてゲルの網目構造のポア（穴）を大きくしています。分離ゲル層では濃縮層よりゲル濃度が高くポアが小さいことから、このポアサイズ差による物理的な濃縮作用もあります。



低分子領域をより分離する Schgger の方法では、泳動緩衝液にトリス - トリシンを用います。トリシンのイオンはグリシネートイオンより速度が速く、低分子試料も追い越していくので低分子の分離が可能である、とゆうようなイメージでしょうか。

泳動緩衝液（イオン）を変えるだけでも泳動結果は変わってきます。DNA や Native 系では TBE（トリス - ホウ酸 -EDTA）、TAE（トリス - 酢酸 -EDTA）、MOPS 緩衝液、酢酸緩衝液なども用いられます。陽極と陰極の組成が異なる泳動方法もあります。

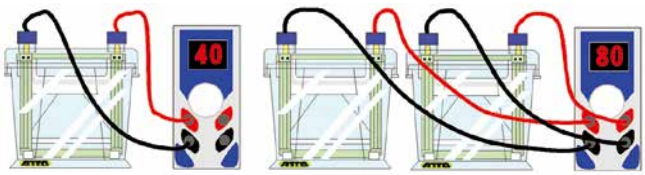
Schaegger, H., and von Jagow, G.,
Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa.
Anal. Biochem. 166(2), 368-379.

6. 通電条件

通電条件

試料（物質）が電場を移動していくのが電気泳動ですが、通常この電場は直流電場のことを言います。電気泳動専用の電源がその制御・供給を行なう装置になります。設定（通電条件）に関して「定電流、定電圧の設定はどのように決めるの？」「電源装置の出力はどれくらいものが必要なの？」との質問が多いのですが、電気泳動の通電条件はほとんどが慣習的になっています。泳動方法に応じて必要な電気容量は異なりますが、まずは**「電流は通電面積に比例し電圧は電極間距離（ゲル長）に比例する」**という原則がベースにあります。定電圧設定が良く使われる例としてはサブマリン型のアガロース電気泳動があります。これはサブマリン型は通電（断）面積（ゲル厚や緩衝液量）の一定化が難しい為､定電流設定では再現性が無くなるからだと思われます。定電圧設定であれば、同じ装置や緩衝液で実施している場合、ゲル厚や緩衝液量が多少違っても再現性は得られます。また、シークエンスや等電点電気泳動では定電力設定を用いると良いでしょう。泳動開始直後は電流が流れ易い状態で発熱等も大きくなるので、定電力にしておけば電流が高いうちは電圧が押さえられ、電流が下がってくると電圧が高くなり自動調節のようになるのです。タンパク質のＰＡＧＥ（スラブ型 最大約 20 × 20cm）の泳動では基本的には電流 100 ｍＡ、電圧 500 Ｖもあれば充分です。定電流・定電圧いずれの設定も用いられています。定電流の場合には電圧は経時変化で増加していきます。逆に定電圧の場合には電流は減少していきます。一般的に泳動は（拡散しない程度に）ゆっくりの方がパターンはきれいだと言われています。しかし、効率（時間・高速化）の点からパターンがひどくならない程度に出力を上げ早く終らせることもあります。いずれにせよ常に**ジュール熱**（通電時に発生する熱）による影響は考慮しなければなりません。熱により試料が拡散したり、分解・不活性化等の影響が出る場合やスマイリングが大きい場合は、通電条件を変更したりゲルの恒温（冷却）化等の対処が必要です。

上記を踏まえて具体例でご説明しましょう。例えば、２連の泳動槽でゲル１枚あたり２０ｍＡで泳動していて次に同条件で２枚泳動するのであれば４０ｍＡに設定します。１mmのゲル厚で２０ｍＡで泳動していて次に同条件で２mm厚のゲルを泳動したいのであれば４０ｍＡに設定する、という事です。また１台の電源に泳動槽を２台（電源端子から各々１台）接続する時は、電源内部は並列ですので、定電流設定なら電流値を２倍に、定電圧設定なら電圧値はそのままで良いわけです。電圧に関しては、泳動距離が長い場合（大きな泳動装置）や温度が低い場合等は、抵抗が大きいので高電圧を必要とする場合が多くなります。他、定電流をＣ．Ｃ（Constant Current)、定電圧をＣ．Ｖ（Constant Voltage）と現す事も多いので覚えておいてください。



定電流 40mA/ ゲル２枚
定電圧 200V

定電流 80mA/ ゲル４枚
定電圧 200V

定電流ゲル１枚あたり 20mA 設定で電気泳動する場合、ゲル２枚なら 40mA、ゲル４枚なら 80mA で設定。ただしゲルも緩衝液も同じ物（抵抗）でないと均一に電流は流れない。この時電圧はゲル何枚でもほぼ同じ値になる。

定電圧 200V で電気泳動する場合はゲルの枚数に関係なく設定は 200V。電流値はゲルの枚数に応じて増えていく。

電源装置の中は並列回路になっている。例えば 80mA に設定した場合、全体で 80mA の出力をしており、必ず１組に 40mA ずつ出力（制御）されているわけではないので注意。

電気泳動法	目安の出力値	注意
ミニスラブ　SDS-PAGE （ゲルサイズ 6~10cm）	電流値　~80mA ／ゲル 電圧値　~600V	高速泳動は電流・電圧値とも大きくなる native PAGE や冷却した場合は電圧は高くなる
ラージスラブ　SDS-PAGE （ゲルサイズ 15~20cm）	電流値　~100mA ／ゲル 電圧値　~800V	
参考 等電点電気泳動	電流値　0~ 数 mA ／ゲル 電圧値　~3000V	等電点電気泳動は 0mA でも出力可能な電源装置が必要
ウエスタンブッティング	電流値　~3A 電圧値　５V~	ブロッテイングは低い電圧でも出力可能な電源装置が必要

電源装置例

7. 検出

検出方法

一般的に試料（タンパク質）は目には見えませんので電気泳動後は速やかにその検出を行ないます。タンパク質ではまず色素染色が定法で、その中でも CBB（クマシーブリリアントブルー）色素による染色が代表的です。色素染色は染色溶液中に泳動後のゲルを浸けておくだけで良いので、簡単で安価な方法です。CBB は感度も数十 ng と高く直線性もあります。タンパク質の定量にも利用されている色素です。CBB には G-250 と R-250 があり若干色味が異なりますがどちらでもかまいません。他、色素染色にはアミドブラック 10B という、感度は劣りますが糖タンパク質の検出には有効なものもあります。いずれも酸性・メタノール中で染色・脱色を行なうのが定法でタンパク質の固定も兼ねています。 最近では酢酸やアルコールを使わずに高感度・短時間に染色できる染色剤 ATTO「***EzStainAQua***」などもあります。※ 15 頁参照　蛍光色素染色も用いられますが、紫外線や LED 照射装置等の検出装置が必要となります。ネガティブ法とはバックグランド（ゲル）が白濁しタンパク質（バンド）が透明なまま残るので、この様に呼ばれます。ATTO ではリバース染色試薬「***EzStainReverse***」がこれに相当します。CBB より感度が高く、検出までの時間が早いという特長もあります。更に高感度な検出法として銀染色が良く用いられます。CBB の約性 100 倍程度の感度で数 ng の検出が可能です。他の染色法に比較すると操作過程が多かったり再現性が若干低い等問題もありますが、市販の物は工夫がなされ大分使い易くなっています。ATTO では「***EzStainSilver***」として販売しています。標識法は最も高感度の検出法ですが、ＲＩ（放射線同位元素）や蛍光物質を試料に取込ませる又は結合させる前処理や専用の検出装置が必要となります。ATTO では「***EzLabelFluoroNeo***」と言う試薬キットで簡単に蛍光物質をタンパク質に結合させることが出来ます。電気泳動後は、固定・染脱色操作や励起波長によってはガラスプレートから取り出す操作をせずに、泳動後すぐに励起光を照射して検出が可能なのが特長です。

検出法	反応	具体例	操作性	感度
色素染色	有色色素のタンパク質結合 蛍光色素のタンパク質結合	CBB（ｸﾏｼｰﾌﾞﾘﾘｱﾝﾄﾌﾞﾙｰ） アミドブラック 10B サイプロオレンジ ™	◎ ◎ ○　検出装置が必要	○　数十 ng △　数百 ng ◎　数 ng
ネガティブ法	SDS と陽イオンとの白濁	Zu、K、Ca 等＋ SDS （バックグラウンドが白濁）	○　若干操作が多い	○　数～十 ng
銀染色	銀の沈着	銀染色（シルバーステイン）	△　操作過程が多い 再現性が低い	◎　数 ng
標識法	タンパク質標識物の検出	蛍光物質 RI（放射線同位元素）	△～○　標識操作が必要 検出装置が必要 ×～○　標識操作が必要 専用設備が必要	◎　数 ng ☆　pg

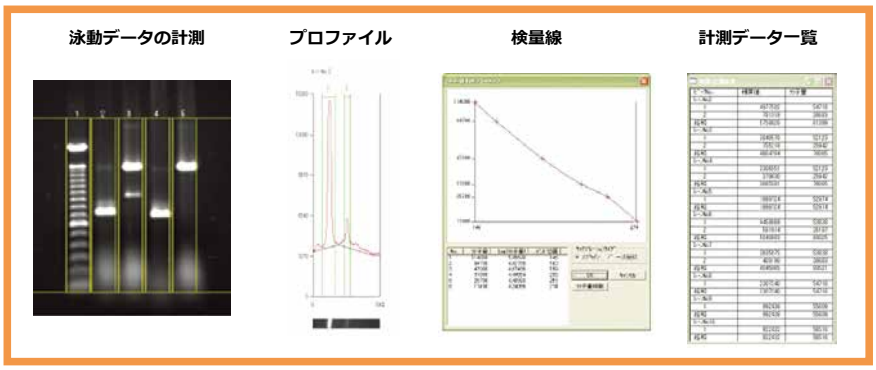
ウエスタンブロッティング（ウエスタンブロット法）は、目的物質だけを見るのための特異的検出法です。電気泳動後のゲルからタンパク質を膜へ写し取り、この膜上で目的物質の抗体と反応させ、さらに酵素標識した抗体等を結合させて最終的には発色・蛍光・発光などの方法で目的物質を検出することが出来ます。感度は高く fg レベルの検出が可能です。

8. 解析・保存

解析・保存

得られた泳動パターンは保存および目的に応じて解析します。ゲルその物を乾燥して保存する方法もありますが、最近では撮影・デジタル化してデータを保存することが一般的です。

例えば試料の比較を行なう場合には、バンドの有無や濃さを見ます。バンドの面積や濃さはある程度タンパク量に比例します。これを利用したのが定量化ですが、検出方法によって定量の直線性の範囲や精度が異なるので注意しましょう。あるバンド（タンパク質）の分子量を測定する場合は、分子量既知のタンパク質（分子量マーカー）の移動度を測って検量線を作成し（4.SDS 電気泳動図参照）、これを利用して分子量を推定します。近年 CCD、CMOS カメラやスキャナー、デジタルカメラなどで撮影およびコンピュータに撮り込んで専用ソフトウェアで解析する方法が広まっています。解析法によってはカメラの能力（解像度や自動補正機能）が適していない場合がありますので注意してください。適正な機器とソフトウエア（ATTO「ルミノグラフ」「CS アナライザー」など）を利用すると解析（分子量測定、パターン比較、定量等）、データ（泳動パターン、解析結果）の保存、プリントアウトが簡単に行なえ、ゲルを取っておく必要もないので便利です。



CMOS カメラ撮影装置

WSE-6170 LuminoGraph I CMOS

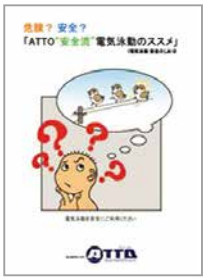
※　安全性

安全な実験を

・アクリルアミド（神経毒）をはじめ、**試薬**の取り扱いには注意してください。必ず白衣や手袋を着用しましょう。市販の既製ゲル（ポリアクリルアミドは毒性がない）や試薬（例えば ***EzStainAQua*** はメタノールを含まない」CBB 染色溶液）を利用するのもお勧めです。

・検出時に**紫外線**や LED 照射装置を使用する場合には、直接光源を見ないようにしましょう。特に波長の短い紫外線は必ず UV カットの眼鏡をし、手袋をして防御してください。近年は紫外線よりは安全性の高い LED 光源が利用されるようになっています。

・**電源**装置、電源付き電気泳動装置など、電気の取り扱いには注意してください。装置を安定した場所に設置する、濡れた手で触らない、出力中は装置を動かさない、など基本的なことはしっかり守ってください。
「電気泳動　安全のしおり」はアトー Web サイトよりダウンロードできます。是非ご一読ください。



9. 電気泳動実践編

以下、代表的なタンパク質の泳動である Laemmli 法（SDS-PAGE）を例に、実際に電気泳動を行なう時の注意点等を紹介しましょう。

準備　必要な試薬・機器

①既製ゲル ATTO「*c-PAGEL Neo*」c･ パジェル Neo
②試料処理溶液 ATTO「*EzApply*」イージーアプライ
③有色分子量マーカー ATTO「*EzProtein Ladder*」イージープロテインラダー
④泳動バッファー ATTO「*EzRun*」イージーラン
⑤ CBB 染色液 ATTO「*EzStainAQua*」イージーステインアクア
⑥蒸留水（純水）

c-PAGEL Neo

EzApply

EzProtein Ladder

EzRun

EzStainAQua

①′ 既製ゲルではなく自分でゲルを作製する場合：
濃縮ゲル用バッファー ***EzGelStack***、分離ゲル用バッファー ***EzGelSep*** 、
アクリルアミド、N,N'- メチレンビスアクリルアミド（Bis）、
過硫酸アンモニウム（APS）、TEMED
②′ 試料処理溶液を自分で調製する場合：
トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）、SDS(ﾄﾞﾃﾞｼﾙ硫酸ﾅﾄﾘｳﾑ)、
塩酸、グリセリン、DTT、BPB（ﾌﾞﾛﾑﾌｪﾉｰﾙﾌﾞﾙｰ）
③′ 分子量を正確に計測する場合：
分子量マーカー ***EzStandard*** Ⅱ
④′ 泳動バッファーを自分で調製する場合：
トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）、グリシン、
SDS(ﾄﾞﾃﾞｼﾙ硫酸ﾅﾄﾘｳﾑ)
⑤′ CBB 染色液を自分で調製する場合：
CBB（ｸﾏｼﾞｰﾌﾞﾘﾘｱﾝﾄﾌﾞﾙｰ）G-250 又は R-250、酢酸、メタノール

※試薬のグレードは電気泳動用又は特級以上のグレードが望ましい。
酢酸、メタノールは 1 級でも良い。
※分子量マーカーは試料の分子量を目安に決める。不明な場合は
約 10000 ～ 90000 又は 200000 の範囲のものならほぼカバーできる。
EzProtein Ladder は有色マーカーです。

- **電源泳動槽一体型装置** ATTO「コンパクトＰＡＧＥ」シリーズ、「パジェラン」シリーズ
  または電気泳動装置（槽）ATTO「ラピダス ミニスラブ」、
  電気泳動用電源 ATTO「パワーステーションⅢ」「マイパワーⅡ」
- **試料加熱処理用ブロック恒温槽**　ATTO「マイミニブロック」
- **振とう器**　ATTO「シーソーシェーカー atto」
- **ゲル染脱色用トレイ**　ATTO「スチロールケース」
- 電子レンジ　（高速染脱色実施時）
- マイクロピペット（1 ～ 20 μ L、20 ～ 100 μ L）、マイクロピペットチップ、ホールピペット、ビーカー、メスシリンダー、遠心チューブ（1.5mL）又は試験管、天秤、スターラー（撹拌器）、保存用びん、ろ紙、ロート、キムワイプなど

コンパクトＰＡＧＥ Ace Neo

マイミニブロック

シーソーシェーカー atto

準備　試薬の調製

自分で溶液類を作製する場合のストック溶液調製法

① 30% アクリルアミド保存液（A 溶液）　冷暗所保存
アクリルアミド　29.2g
N,N'- メチレンビスアクリルアミド（Bis）　0.8g
純水に溶解し 100mL とします。

② 1.5M　Tris-HCl 緩衝液、0.4%SDS (B 溶液)　冷暗所保存
または「*EzGelSep*」　室温保存
トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）　18.2g
ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）　0.4g
以上を純水に加え、塩酸 (HCl) で pH 8.8 に調製し、100mL とします。

③ 0.5M　Tris-HCl 緩衝液、0.4%SDS（C 溶液）　冷暗所保存
または「*EzGelStack*」　室温保存
トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）　6.1g
ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）　0.4g
以上を純水に加え、塩酸 (HCl) で pH 6.8 に調製し、100mL とします。

④ 10% 過硫酸アンモニウム（10%APS）　使用時調製
過硫酸アンモニウム　100mg
純水 1mL に溶解します。

⑤試料処理液　または「*EzApply*」　冷暗所保存
ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）　0.1g(1%)
2 -メルカプトエタノール (又は DTT)　0.1mL(1%)
C溶液（0.5M　Tris-HCl 緩衝液　pH6.8)　1mL(50mM)
グリセリン　2mL(20%)
純水で 10mL とします。

⑥マーカー色素（ＢＰＢ）溶液　冷暗所保存
ブロムフェノールブルー（ＢＰＢ）　1mg
グリセリン　0.1mL
純水　0.9mL

⑦泳動槽（上部、下部槽）用緩衝液　冷暗所保存
トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）　1.5g(25mM)
ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）　0.5g(0.1%)
グリシン　7.2g(192mM)
純水で 500mL とします。HCl での pH 調整は行いません。
（ミニスラブ泳動１回分、コンパクトＰＡＧＥ泳動２回 / ゲル分に相当）

⑧クマジーブリリアントブルー（ＣＢＢ）染色液　密閉保存
クマジーブリリアントブルー（ＣＢＢ）1g
メタノール　300mL
酢酸　100mL
純水　600mL
ろ紙でろ過をしてから使用します。

⑨クマジーブリリアントブルー（ＣＢＢ）脱色液　密閉保存
メタノール　300mL
酢酸　100mL
純水　600mL

※市販のアクリルアミド溶液を購入する場合には、アクリルアミドと Bis 比に注意すること。比率が変わると移動度が変わる。

注 各溶液、特に①②③液調製時には激しい攪拌を行なわないこと。アクリルアミドは酸素（空気）が重合阻害になるため、泡立てたりするとゲル調製時に固まりにくくなる。

※既製ゲル ATTO「*c-PAGEL Neo*」を使用する場合は① ~ ④は不要

※ゲルバッファー ATTO「*EzGelSep*」を使用する場合は②は不要

※ゲルバッファー ATTO「*EzGelStack*」を使用する場合は③は不要

※試料処理溶液 ATTO「*EzApply*」を使用する場合は⑤⑥は不要

注 2 -メルカプトエタノールは毒劇物指定品
（*EzApply* は DTT を使用)

※ ゲルにアプライ時の試料溶液のタンパク質終濃度は CBB 染色の場合 1 ～ 2 mg/mL が目安。銀染色はその 1/10 くらいが目安。

※泳動バッファー ATTO「*EzRun*」を使用する場合は⑦は不要。「*AE-1440 EzRun*」を純水に溶解する。または「*AE-1441 EzRun*」の場合は調製不要。

※ CBB 染色液 ATTO「*EzStainAQua*」を使用する場合は⑧⑨は不要

※ 酢酸、メタノールはタンパク質（試料）の固定作用がある。

操作

1．ゲルの作製（既製ゲル使用の場合は不要）

ガラスプレートを組み立てる
↓
分離ゲル溶液を調製・注入
↓
純水を重層し、ゲル化（３０～６０分）
↓　ゲル化するといったん消えたゲル溶解液と水の境界線が見えてくる
濃縮ゲル溶液を調製
↓
純水を捨て濃縮ゲル溶液少量注入し洗浄
↓
濃縮ゲル溶液を注入
↓
サンプルコウムを挿入、ゲル化（２０～３０分）

ゲル溶液調製例

	分離ゲル			濃縮ゲル
	7.5%	10%	12.5%	4.5%
蒸留水	5.0ml	4.2ml	3.3ml	3ml
A 溶液	2.5ml	3.3ml	4.2ml	0.75ml
B 溶液	2.5ml	2.5ml	2.5ml	-
C 溶液	-	-	-	1.25ml
10%APS	0.075ml	0.05ml	0.05ml	0.05ml
TEMED	0.005ml	0.005ml	0.005ml	0.0025ml

2．試料調製

試料（ex. 血清、細胞抽出物）を用意
↓
ＳＤＳ処理
※ タンパク質の可溶化・一過性にマイナス荷電を持たせる、溶液に比重をつける、等の目的で実施
試料溶液とＳＤＳ溶液混合（全量約１００～５００μL）
EzApply との混合は 1:1
※ タンパク質量は検出方法によって異なるが、CBB 染色検出であれば 1mg/ml くらいが目安。
煮沸 1 ～ 3 分又は室温で 30 分以上静置

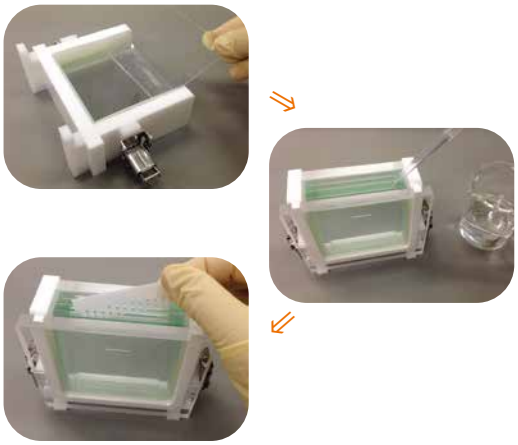
3．電気泳動

電気泳動槽装置、緩衝液等を準備
↓
泳動槽の下部槽に泳動バッファーを入れる
↓
ゲルを泳動槽にセット (向きに注意)

Web サイトで動画公開中

WSE-1030
コンパクト PAGE Ace Neo　操作

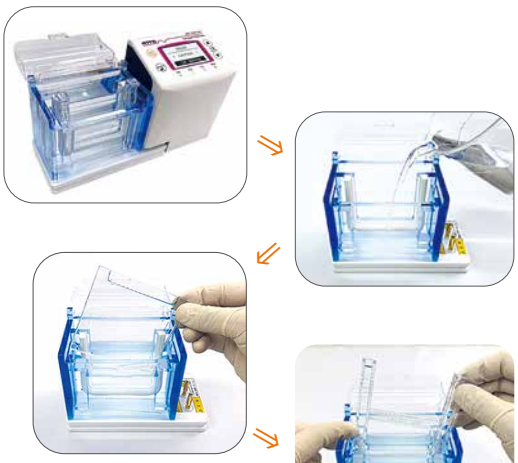
WSE-1030 コンパクト PAGE Ace Neo
& WSE-1092 多連コンパクトゲル作製器 での
電気泳動（タンパク質の SDS-PAGE）操作例



注 ガラスプレート類はきれいに洗浄しておくこと。
汚れはゲル重合ムラの原因になることもある。

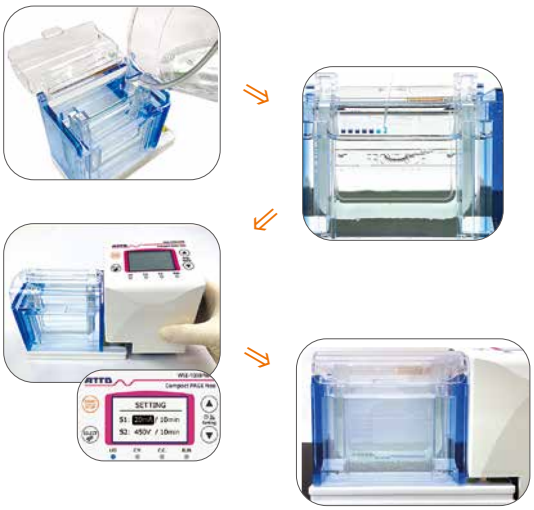
※ WSE-1091 コンパクトゲル作製器 (ゲル 1 枚用)
既製ゲル c-PAGEL Neo もあります

※ ＳＤＳ処理時に完全に溶解しないようであれば遠心して上澄みを使用する。脂質等が含まれている場合は上澄み液面に浮くのでこれを回収しないようにする。



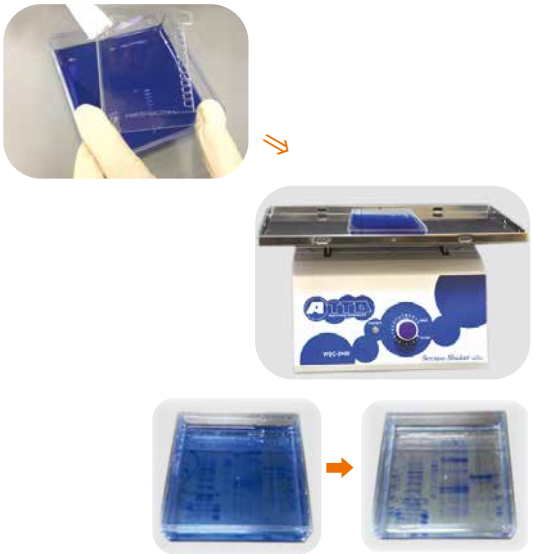
※ ゲルガラスプレートの切欠きがあるほうが上側背面側に向くようにセットする。

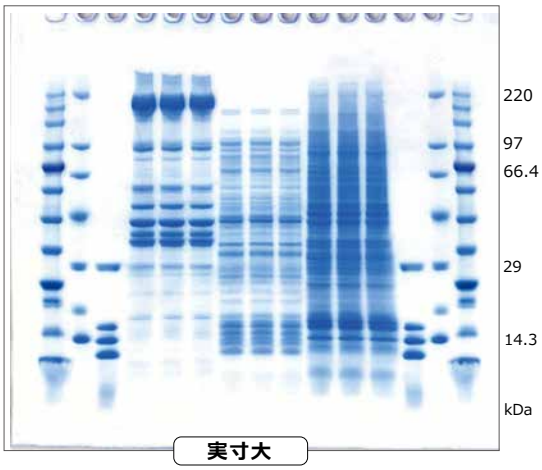
上部緩衝液を入れる
↓
泳動用ゲルに試料をアプライする（約３～８μL）
　なるべく試料溝底部に近いところまで
　チップやシリンジの先端を入れ静かにアプライする
↓
電源部をセットして通電開始
　標準モード Stad.mode　約３０分
　高速モード High mode　約１０分



４．検出（染脱色）・保存

泳動終了
↓
ゲルをガラスプレートから出す
　ゲルが着いているところを濡れたヘラで切り込みを入れ
　ガラスプレートを逆さまにしてゲルの端を剥がす
↓
ゲル（タンパク質）を染色液に浸す
　ゆっくり振とう　通常 40 ～ 60 分が目安
　電子レンジを利用（沸騰させないよう数分）すると
　10 分くらいで染色可能
↓
脱色（余分な色素を洗い流す）
　水でゆっくり振とう、数回液交換
　ゲル（バックグランド）が透明に近くなるまで
↓
泳動パターンの撮影（データ保存）
↓
（必要であればゲルを乾燥・保存）





電気泳動例（高速電気泳動）

泳動装置：**WSE-1030 CompactPAGE Neo**
コンパクトページネオ
450V **10min**
試　料　：分子量マーカー ***WSE-7015 EzStandard*** Ⅱ
WSE-7020 EzProtein Ladder
他
ゲ　ル　：c-PAGEL Neo
（5-20% ポリアクリルアミドゲル既製ゲル 60 × 60mm）
泳動バッファー：***AE-1440 EzRun***（Tris-Gly.SDS）
イージーラン
CBB 染色：***AE-1340 EzStain AQua***（CBB 染色液）
イージーステインアクア

10. トラブルシューティング（電気泳動のコツ）

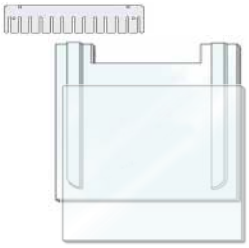
よくあるトラブル例

泳動がうまくいかない時等の**対処法**です。きれいな泳動結果を得る為の**コツ**でもありますので是非ご参考に！

1．ゲルがうまくできない

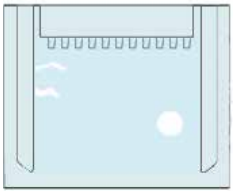
電気泳動できれいなデータを得る一番のコツは何と言ってもきれいなゲルを作製することです。**重合ムラ**を作らない様に以下の様な事柄に注意してみてください。
（ゲルについては「３．ポリアクリルアミドゲル電気泳動」も参照ください）

問題点	原因と対策
ゲルが固まらない 重合ムラがある	ガラスプレートやコウムは**きれい**な物を使用する事、汚れているとゲル化し難くなります。アルコールでは拭かないでください。
	ゲル溶液は**丁寧・充分に混ぜる**事。当然均一溶液でなければ均一なゲルは出来ません。かと言って長時間又は激しく攪拌すると空気中の酸素を溶解する事になり（**酸素はゲル化を阻害**します）ゲル化し難い状態を招いてしまいます。手法によっては溶液類を脱気することがありますが、（等電点電気泳動のゲルを除いて）当社の処方では脱気の必要はありません。
	ゲル溶液が接している素材にも影響されます。例えば**シリコン**（ガスケット）に接触している部分もゲル化しにくいので、ゲル作製時にゲル底面に少し溶液が残っていても心配しないでください。
	冷蔵庫から取り出した試薬（溶液）を即使用、注入すると**温度ムラ**によるゲル化の不均一を生じる事があります。これはゲル化が温度により影響を受ける為（温かい方がゲル化し易い）です。**冷暖房の風**があたる所等でのゲル作製も避けた方が良いでしょう。
	一般的に**ゲル濃度**は低い方がゲル化し難く、高いほど固まり易いです。従って３～７％ぐらいの低濃度ゲルを作製する場合は上記の事項に気をつけたうえで過硫酸アンモニウム（APS）、TEMED の量を適当量（概ね１０％程度）増やして検討ください。濃縮ゲルでコウム（溝と溝の間）のゲルが出来ないことがありますが、この方法で対処してみてください。
	ゲル溶液の**調製時に間違い**がないか確認してください。ストック溶液も含めて、濃度が間違っていないか古くなっていないかも確認しておきましょう。 **試薬が古く**なっているとゲルが固まらないことがあるので念の為確認してください。
アリの巣のような気泡が入る	高濃度ゲルを作製した場合ゲルがガラスプレートから**剥離**することがあります。円形の気泡やアリの巣のような形の気泡が入っているように見えます。この時には過硫酸アンモニウム、TEMED の量を１０％程度減らしてみてください。またゲル溶液の脱気は必要ありません。



コウムやガラスはきれいに！

ゲル化に影響する要因



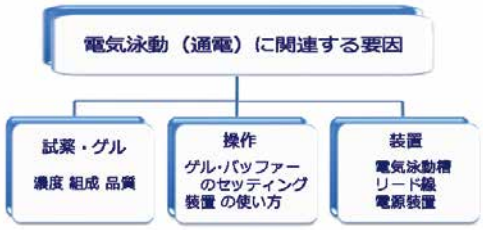
2．スマイリング？

電気泳動で通電時に発生するジュール熱の原因で「スマイリング現象」が発生します。似たような現象でも原因が異なる場合があるので注意しましょう。

問題点	原因と対策
泳動パターンが湾曲する （スマイリング現象）	通電時の発熱（ジュール熱）を要因とする場合は、ゲル中央部と両端の**温度差**による移動速度差が原因ですので、通電（出力値）を下げてゆっくり泳動するか、泳動バッファー等にゲル部（ガラスプレート）を浸漬して温度均一化を図ります。
泳動パターンが湾曲する 外へ広がる	スマイリングに似ていますが、外側へ向かって広がっている場合は、**通電漏れ**の可能性もあります。ゲル作製時にガラスプレートセットを抑えているクリップが弱かったり、泳動槽にセッティング時にガラスプレートが緩んでいないか確認してください。

3．泳動が出来ない、泳動時間がいつもと違う

泳動槽や電源装置などの**ハード類**と**操作**とゲルや緩衝液（バッファー）などの**ソフト類**に分けて原因を考えます。**泳動槽**の白金線や**リード線**が断線していたり、**電源装置**が故障していては当然正しい通電はされません。同様に装置を正しく使用しなければ正しい結果は出ません。ゲルや試薬､バッファー類も正しい組成で再現性のあるきれいな結果が得られるのです。



問題点	原因と対策
BPB が動かない 通電していない？	まず電流、電圧値を確認しましょう。電源装置に Err が表示されて止まっていたり､電流値が 0 もしくは数 mA､数 V という表示になっていないか。 全く通電していない場合には泳動槽やリード線の断線、電源装置の異常等が考えられます。テスターで確認したり、他の装置に置き換えてみたり、最終的にはメーカーに相談するのが良いでしょう。 少しでも通電している場合には、操作の間違いやバッファー等の調製間違いなどの可能性があります。ガラス(ゲル)プレートやダミープレートの設置向きやバッファー量などを確認していください。**電気の通り道**はちゃんと出来ていますか？取扱説明書は装置の一部です。装置と一緒に保管して利用してください。**安全の為にも重要**なことです。 バッファーは試薬の間違いや濃度が薄いと電流が流れにくくなります。心配な場合は調製し直しましょう。
いつもより泳動時間が長い、遅い 	数分～ 10 分程度、 5 %程度の誤差はあまり気にしなくても問題ありません。 まず電流、電圧値を確認しましょう。いつもより電流・電圧が低ければ当然泳動時間も長くなります。例えばゲル 1 枚を C.C20mA で通電していて、ゲル 2 枚／槽で泳動する場合は 40mA にしなければなりません。 泳動バッファーが漏れていないか確認ください。上下（陰陽）の電極槽はしっかり遮断されていなければなりません。 装置や操作に問題がなければ泳動・ゲルバッファー組成を確認してください。バッファーが濃いと泳動時間が長くなります。試料を大量のアプライしている場合にはその組成が影響することもあります。電気が流れ難い組成の試料溶液を大量（容量・数）にアプライしていると抵抗になることがあるようです。
いつもより泳動時間が短い 速く終わった 	数分～ 10 分程度、 5 %程度の誤差はあまり気にしなくても問題ありません。 まず電流、電圧値を確認しましょう。いつもより電流・電圧が高ければ当然泳動時間も短くなります。例えばゲル 2 枚／槽を C.C40mA で泳動していて、 1 枚で泳動する場合は 20mA にしなければなりません。 装置や操作に問題がなければ泳動・ゲルバッファー組成を確認してください。バッファーが薄いと泳動時間が短くなります。電気が流れ易い組成の試料溶液を大量（容量・数）にアプライしているとその組成が影響することがあるようです。

電圧値
電流値
の
確認

実験条件はメモしておきましょう！

取扱説明書は製品の一部です。
大事に保管して有効利用しましょう！

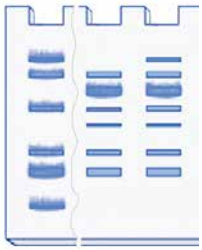
！原因を探るヒント！

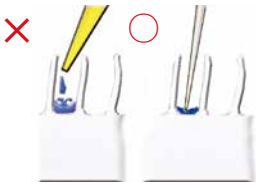
例えば分子量マーカーや試料をアプライしたレーン全体的に泳動パターンが異常な場合は、泳動用緩衝液やゲル等全体に影響しているものが原因の可能性が高くなります。分子量マーカーは問題ない、という場合には試料（溶液）が原因の可能性が高い、と判断します。

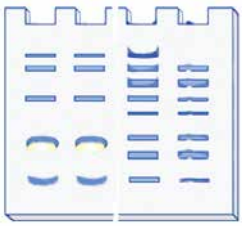
4．バンドがシャープにならない、形が変、縦筋が入る

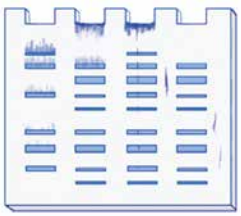
原因はゲルをはじめいろんな要因が考えられますが、**緩衝液**（バッファー）か**試料**（サンプル）にあることが多いです。ゲル作製用緩衝液・泳動用緩衝液および試料溶液の試薬や組成、濃度をもう一度確認してみてください。

問題点	原因と対策
バンドがスメア（ブロード状） シャープにならない ▬	**緩衝液**（バッファー）か**試料**（サンプル）に起因することが多いです。ゲル作製用緩衝液・泳動用緩衝液の試薬や組成、濃度をもう一度確認してみてください。 Laemmli 法では泳動用緩衝液のｐＨ調整は必要ありません。かえってイオン系がおかしくなり泳動パターン（結果）に影響を及ぼしてしまいます。同様の理由で泳動用緩衝液の再利用はお勧めできません。もともと濃縮作用の無い泳動方法ではバンドがシャープになり難いこともあるので文献等のデータと比較してみてください。 **試料**に原因のある場合は試料溶液中の塩や界面活性剤、変性剤の影響や試料（タンパク質）の状態（分解や還元・修飾等）が考えられます。塩や界面活性剤、変性剤等の濃度が高いとバンドがスメアになったり変形したりすることがあります。例えば試料の抽出や調製の過程で大量に含まれていないか確認してください。隣の試料同士も影響するので各濃度や量（アプライのボリュームおよびタンパク質量）もなるべく揃えた方が良いでしょう。また試料の分解が起こるとバンドがスメアになります。試料が古くなっていないか保存方法は大丈夫か還元は十分か確認してみてください。分解され易い試料は抽出から泳動までなるべく短時間で、操作中は氷中に置くなどして対処してください。還元処理をしている場合、還元反応が不十分だったり泳動中に再酸化（-S-S- の再結合）が起きるとバンドがシャープにならないことがあります。還元剤が古くなっていないかの確認や、2- メルカプトエタノールを使用している場合はより還元力の強い DTT に変える等してくだい。「4.SDS 電気泳動（Laemmli 法）試料」も参照ください。また、**低分子量**（数千 Da）の試料や糖タンパク、リポタンパク等はバンドがシャープになり難い傾向にあります。比重もしっかりつけて、チップ先端がウェル底につくような丁寧なアプライを心がけましょう。低分子量のバンドは通電が停止すると拡散するので、泳動終了後直ぐに固定・染色する電子レンジ法等をお勧めします。
バンドの形が変 凹 ～ へ	試料溝（ウェル）がきれいに出来ていないとそのままの形で泳動されてしまうこともあります。未重合のアクリルアミドやゲル片が無いように試料溝の洗浄も忘れないでください。比重もしっかりつけて、丁寧なアプライを心がけましょう。 試料溶液中の塩や界面活性剤、変性剤の影響や DNA、試料の分解物等が要因になることもあります。塩や界面活性剤、変性剤等の濃度が高かったり試薬が古いと泳動パターンが曲がったり、バンドが変形したりすることがあります。例えば試料の抽出や調製の過程で大量に含まれていないか確認してください。 隣の試料同士も影響するので各濃度や量（塗布のボリュームおよびタンパク質量）もなるべく揃えた方が良いでしょう。
縦筋が入る III	試料が十分に溶解していない場合に見られることが多い現象です。特にウェル底部分も染色されているようであれば、溶解していない物質が大量にあるか、一旦溶解したように見えてもアグリゲーションを起こしたり、泳動時の濃縮で不溶化した物質があることが推測されます。試料調製条件を検証するか、アプライ前に遠心をして、不溶性物質を除去します。ウェル下、レーン以外の場所で縦筋が見られた場合はゲル作製時または泳動時の汚れ・コンタミが原因の可能性があります。





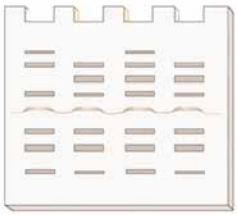


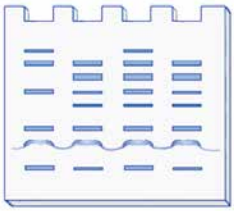


5．余計なバンドが出る

試料をアプライしていないレーンやゲル全体にもバンドが見えてしまう、という現象と同一レーンの中に？？？なバンドが出現する場合、バンドの形等によって要因は様々です。

問題点	原因と対策
銀染色で 余計な横筋・バンドが出る	試料をアプライしていないレーンやゲル全体にも横筋やバンドが見えてしまう、という現象は特に**銀染色**で発生する場合が多いようです。これは銀染色が高感度でかつ特異性が低い（タンパク質でなくても発色する）為に起こります。ほとんどの場合、水や試薬の**汚れ**（コンタミを含む）が原因です。純度の高いものを使用し溶液等を調製し直してください。ストック溶液から調製している場合は、念のためストック溶液を調製し直してみてください。他、試料処理溶液中の還元剤 **2－メルカプトエタノール**が原因になることもあります。ゲル下部から 1/3 くらいのところに横一線状に出ることが多いです。他の還元剤 (DTT など) に変更する等して対処してください。
レーン外に余計な横筋・バンドが出る	水や試薬、容器の**汚れ**（コンタミを含む）が原因であることがほとんどです。純度の高いものを使用し溶液等を調製し直してください。ストック溶液から調製している場合は、念のためストック溶液を調製し直してみてください。 試料アプライ時に**チップ**から試料がこぼれている場合もあります。試料溶液を吸ったチップを泳動用緩衝液に浸けた瞬間に試料溶液の比重によって溶液が出てきてしまうことがあります。試料アプライ時にはウェルの真上にチップを持っていき素早く真下へ差し込むようにしてチップを差し込み試料溶液を押し出すようにしましょう。 ゲルがガラスプレートから**剥離**していると試料が横筋のように広がってしまうことがあります。ゲル作製時から泳動槽のセッティング時に確認・注意してください。試料のタンパク質量が過剰の場合もゲル表面を広がることがあります。いずれもバンド由来（バンドから広がっている）ので判断がつきます。
レーン内で余計なバンドが出る	同一レーンの中で余計なバンドが見られる場合は試料（タンパク質)溶液由来であることがほとんどです。試料溶液へのコンタミか、タンパク質が分解していたり凝集（アグリゲーション）を起こしていたりすることも考えられます。試料溶液を調製しなおしてみてください。

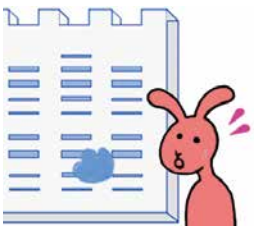




6．バックグラウンドがムラ、高い

ゲルを染色してみたところ、バックグラウンドがムラになっていたり、高くなってしまった、と言う場合

問題点	原因と対策
バックグラウンド ムラ、高い	染脱色（検出）時のステップに目が行きがちですが、ゲル作製時や泳動時の水や試薬等が汚れていて原因になることもあるので、一考ください。 ゲル染脱色に使用する容器（トレイやタッパウェアなど）が清潔であるのは当然です。手もタンパク質ですので手袋等をはめ直接触らないようにしましょう。容器にはゲルが沈むと言うより溶液中に浮かぶ程度の十分量の染色液を入れ、ゲルが底に着かないように振とうします。複数のゲルを同一容器に入れる場合はこれらにさらに注意してゲル同志がくっつかないようにします。脱色時も同様です。振とうも水平回転式は液の撹拌が十分でないこともあるので出来れば他の方式の振とう器を使用しましょう。



11. 電気泳動製品紹介

さあ 電気泳動を始めましょう！

初めての電気泳動にもおすすめ！ 小さい、早い、省スペース、省コスト！タンパク質・核酸いずれにも対応。
既製ゲル (c ・パジェル Neo) を利用して泳動～検出が 1 時間以内で終ります。試料処理溶液から染色液まで試薬も揃っています。他、下記以外にも各種スターターシステムを取り揃えていますので ATTO までお問合せください。

コンパクトＰＡＧＥ Neo

多連コンパクトゲル作製器

c ・パジェル Neo

マイミニブロック

EzApply

EzProtein Ladder

EzRun

EzStainAQua

シーソーシェーカー atto

コード No.	製品名 <既製ゲル・コンパクト電気泳動システム> 例	数量	価格（税込）
2322245	WSE-1040 コンパクト PAGE Neo　電源搭載型小型二連電気泳動装置	1 式	140,000 円
2331605	CN-520L c ・パジェル Neo (10 枚入)　既製ゲル	1 箱	24,800 円
2332330	AE-1430 EzApply　SDS 処理溶液試薬キット 25mL	1 セット	10,800 円
2332346	WSE-7020 EzProtein Ladder　有色（分子量）マーカー 500 μ L	1 袋	26,800 円
2332310	AE-1410 EzRun　泳動バッファー 10L 分粉末	1 袋	7,800 円
2332370	AE-1340 EzStain AQua　CBB 染色液 1L	1 本	13,800 円
4002610 4002642	WSC-2610 マイミニブロック　恒温装置 15 本× 1.5mL マイクロチューブ用ブロック	1 台 1 個	62,800 円 15,800 円
2312200	WSC-2400 シーソーシェーカー atto　振とう器	1 台	155,000 円

コード No.	製品名 <ゲル自作・コンパクト電気泳動システム> 例	数量	価格（税込）
2322245	WSE-1040 コンパクト PAGE Neo　電源搭載型小型二連電気泳動装置	1 式	140,000 円
2393684	WSE-1092 多連コンパクトゲル作製器	1 式	48,000 円
2332327	WSE-7310 EzGelAce　ゲルバッファー 250mL	1 本	9,800 円
2332330	AE-1430 EzApply　SDS 処理溶液試薬キット 25mL	1 セット	10,800 円
2332346	WSE-7020 EzProtein Ladder　有色（分子量）マーカー 500 μ L	1 袋	26,800 円
2332310	AE-1410 EzRun　泳動バッファー 10L 分粉末	1 袋	7,800 円
2332370	AE-1340 EzStain AQua　CBB 染色液 1L	1 本	13,800 円
4002610 4002642	WSC-2610 マイミニブロック　恒温装置 15 本× 1.5mL マイクロチューブ用ブロック	1 台 1 個	62,800 円 15,800 円
2312200	WSC-2400 シーソーシェーカー atto　振とう器	1 台	155,000 円

2025.2

アトー株式会社

生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器
開発/生産/販売/サービス

主要製品
●発光・蛍光イメージングシステム
●画像解析ソフトウエア　●電気泳動装置
●電気泳動関連試薬　●ウエスタンブロット試薬
●ペリスタポンプ　●細胞培養・観察システム

■東 京 本 社　〒111-0041 東京都台東区元浅草3-2-2　☎(03)5827-4861(代表)　FAX(03)5827-6647
■大 阪 支 店　〒530-0044 大阪市北区東天満2-8-1 若杉センタービル別館 5F　☎(06)6136-1421(代表)　FAX(06)6356-3625
■技術開発センター　〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6　☎(03)5818-7560(代表)　FAX(03)5818-7563
◆メンテナンスサービスグループ　☎(03)5818-7567(代表)　FAX(03)5818-7563

■URL　https://www.atto.co.jp/　お問い合わせ　WEB会員登録の上お問い合わせフォームをご利用ください。