電気泳動（パワーサプライ、ゲル、バッファー、分子量スタンダード、染色剤）

Frequently Asked Questions

FAQ リスト

このリストには、バイオ・ラッド製品に関するよくあるお問い合わせを掲載しております。ここに掲載している製品は研究用途として販売しており、医療・診断目的でのご使用はできません。

#	Question	Answer
1	[パワーパック] エラー ″E01 NO LOAD DETECTED″ が表示されました。	負荷が検出されなかった場合（NO LOAD 時）に表示されるエラーです。次の点が原因として考えられます。 1) 回路のどこかで断線や接触不良がある。 断線などがないか、すべての装置の電気接続を確認してください。 2) バッファーが不足している。 バッファー量や組成が装置に適切なものか確認してください。 3) 電流の負荷が、ご使用のパワーサプライの下限値を下回った。 （出力可能な電流の下限値：Basic 4mA, HC 10mA, Universal 2mA, HV 0.05mA） 理論的に予想される電流値がパワーパックの出力範囲内であることを確認してください。 参考までに、100V 以下の定電圧設定でミニゲル1枚を泳動すると、終盤にかけて電流値が 10mA より下がってしまう事があります。パワーパック HC の場合、電流の下限値は 10mA なので、このタイミングで E1 エラーが発生する事があります。このような場合には、設定電圧を上げたり、ゲル枚数を増やしたりして、出力電流値が高くなるようにしてください。 （関連 FAQ #6）
2	[パワーパック] エラー ″E02 SHORT CIRCUIT″ が表示されました。	パワーサプライの上限値を超える電流が流れたときに表示されるエラーです。 （電流の上限値：Basic 400mA, HC 3A, Universal 2.5A, HV 500mA） 次の点が原因として考えられます。 1) 接続不良によるショートがある。 すべての電気的接続箇所の接触が良好で、ショートが無いことを確認してください。 また、電線やワイヤー電極の形状が良好な状態に保たれていることを確認してください。 2) バッファー濃度が濃い、コンタミネーションがある。 バッファー量や濃度が適切かどうかを確認してください。 ショートがなく、バッファー量も適当である場合にはバッファー溶液を作り直してみてください。 3) 理論的に電流が規定値以上流れる。 理論的に予想される電流値がパワーパックの出力範囲内であることを確認してください。

#	Question	Answer
3	[パワーパック] エラー ″E09 RESISTANCE CHANGE DETECTED″ が表示されました。	抵抗値の急激な変動を検知した時に表示されるエラーです。 原因として次の点が考えられます。 1) 接続が緩く、負荷が不安定になった。 すべての電気的接続を確認し、バッファーの組成や量が適正であるかを確認してください。 2) 動作中に泳動槽を外した、追加接続した。 泳動槽を外したり接続したりする際は、必ず動作を停止させてください。 3) 泳動バッファーの量が変化した。 バッファー漏れが無いことを確認してください。 4) 理論上、抵抗値が変動するアプリケーションを実行した。 DCode システムなどを使用した場合は正常時にも抵抗値が 25%以上変動することがあり、抵抗急変動検出機能(RRCd)の作動により誤って電源が遮断されてしまうことがあります。このような場合は RRCd を意図的に解除して、電源供給を中断しないようにすることができます。パワーパックシリーズはどの機種でも RRCd を解除する機能があります。一例としてパワーパック Universal では次のように設定しますが、その他の機種については、各機種の取扱説明書をご参照ください。なお抵抗急変動検出機能をオフにすると、電源コード破損や電気的接続部の緩みなどを検知できなくなる可能性が高くなります。充分な注意を払った上でご使用ください。 ・パワーパック Universal の場合 (1) セットアップキー(Set up)を押す (2) 上下矢印キーを使って「RRCd-NLDd」を選択する (3) 「MODIFY キー」を押して、「ON」から「OFF」に変更する(RRCd-NLDd (OFF) と表示) (4) 「ACCEPT キー」を押して元の画面に戻る 取扱説明書は各製品ページをご参照ください。
4	[パワーパック] 電流出力の下限値の設定を解除することはできますか。	パワーパック Universal と HV の 2 機種では、解除設定が可能です(Basic と HC では、解除する機能は無い)。 電流リミットを解除することで、等電点電気泳動のような低い電流値での泳動にも対応可能となります。ただし泳動中に断線などのトラブルがあった場合でも通電はストップしないので、時々泳動槽に異常がないか観察するなど、ご注意の上でご使用ください。 次のような手順で設定しますが、詳細はパワーパック Universal、HV の取扱説明書をご参照ください。 なお、この設定は電源を切るたびにデフォルト(ON)に戻りますので、電源を入れる度に設定が必要となります。 ・パワーパック Universal の場合 (1) セットアップキー(Set up)を押す (2) 上下矢印キーを使って「RRCd-NLDd」を選択する (3) 「MODIFY キー」を押して、「ON」から「OFF」に変更する(RRCd-NLDd (OFF) と表示) (4) 「ACCEPT キー」を押して元の画面に戻る ・パワーパック HV の場合 (1) セットアップキー(Set up)を押す (2) 上下矢印キーを使って「NLd」を選択する (3) 「CHANGE キー」を押して、「ON」から「OFF」に変更する(NLd OFF と表示) (4) 「EXIT キー」を押して元の画面に戻る 取扱説明書は各製品ページをご参照ください。

#	Question	Answer
5	[ミニプロティアン TGX, Peptide, TBE, TBE-Urea ゲル] 泳動にあたって推奨される電気条件はどの程度ですか。	推奨される電気条件は次のようになります。 ミニプロティアン TGX ゲル　200V 定電圧 約 30-40 分 ミニプロティアン Peptide ゲル　100V 定電圧 約 100 分 ミニプロティアン TBE ゲル　100V 定電圧 約 45-100 分 ミニプロティアン TBE-Urea ゲル　200V 定電圧 約 45-75 分 その他の使用方法の詳細は、製品サイトから「ミニプロティアンゲルシリーズクイックガイド」をご参照ください。
6	[ミニプロティアン TGX ゲル] 泳動を始めると、先端色素がほとんど進まなかったり、斜めに歪んで泳動されたりしてしまいました。どのような原因が考えられますか。	ゲルに均一な電場がかけられていない可能性が考えられますので、次の点に問題がないかご確認ください。 ・ゲル下端に貼られたシールの剥がし忘れ ゲル下端のシールが残っていると通電も妨げられるため、泳動されません。ゲル下端部を見て緑色のシールが残っていないかご確認ください。 ・上部バッファー量の不足 2 枚のゲル（またはゲルとバッファーダム）の間に注ぎ込んだバッファーの水位が低下していないかご確認ください。ウェル位置を示す黒線と同じ高さの水位だった場合には、ゲルに通電できていません。上部バッファーの水位を、溢れる寸前くらいまで増やして通電を始めてください。 ・ゲルプレートを逆向きにセット ゲルプレートの表裏を逆向きにセットすると、ゲルがバッファーに接触できないため通電しません。ゲルプレートの縦に長い方が、外側にセットされるようになっています。また外側からゲルを見たときに、数字が読める向きが正しい方向ですので、ゲルの向きが正しくセットされているかご確認ください。 （関連 FAQ #1）
7	[ミニプロティアン TGX ゲル] 箱からゲルを取り出して使用しようとしたところ、ゲルに亀裂、気泡が生じてしまっていました。	プレキャストゲルは、輸送中や保存中に過冷却状態となって一時的に凍結すると、ゲルが膨張・収縮してしまうため、ゲルに亀裂が生じたり、ゲル・プレート間に気泡ができたりします。このような状態になったゲルは使用できませんので、廃棄して正常なゲルをご使用ください。ゲルの輸送や保存に際しては、次のような点にご留意ください。 ・輸送中は直接ゲルが保冷剤に接した状態は避ける ゲルを保冷するために、ゲルと保冷剤を一緒に輸送する事があるかと思いますが、このようなケースでは保冷剤が直接ゲルに接した状態とならないように、緩衝材でゲルを保護して輸送するようにしてください。 ・冷蔵庫内でゲルを保存する際にも、冷気の吹き出し口付近は避ける 冷蔵庫にゲルを保存する際に、冷気の吹出し口周辺にゲルを置くと、ゲルが過冷却状態となって凍結してしまう可能性があります。冷気の吹き出し口の周辺は避けてゲルを保存するようにしてください。
8	[Criterion TGX, Peptide, TBE, TBE-Urea ゲル] 泳動にあたって推奨される電気条件はどの程度ですか。	推奨される電気条件は次のようになります。 Criterion TGX ゲル　200V 定電圧 約 40-45 分 Criterion Peptide ゲル　125V 定電圧 約 100-120 分 Criterion TBE ゲル　100V 定電圧 約 70-90 分 Criterion TBE-Urea ゲル　200V 定電圧 約 70-90 分 その他の使用方法の詳細は、製品サイトから「Criterion セル取扱説明書」をご参照ください。

#	Question	Answer
9	[プレシジョン Plus スタンダード] 各バンドのタンパク質量はどのくらいですか。	プレシジョン Plus スタンダードシリーズは、分子量計算や分離パターンの確認を目的とした製品になりますので、バンドごとの正確なタンパク質量は定められていません。 着色済みタイプのプレシジョン Plus スタンダード(プレシジョン Plus ブルー、デュアル、カレイドスコープ、WesternC)は、あらかじめ標識した色素の影響のため、CBB 等の染色剤による染色性にも影響があります。そのためタンパク質量の概算には、適しておりません。 プレシジョン Plus スタンダードプラグは各バンドのタンパク質量が表示されています。 プレシジョン Plus スタンダード(未着色)に関しては、参考値として数本のバンドにおいて 10ul アプライした場合のタンパク質の量の目安が公開されています。ただし定量用のスタンダードとして販売しているものではないため、数値はあくまで参考値としてお考えください。 100kD band : 150ng 50kDa band : 750ng 20kDa band : 150ng
10	[プレシジョン Plus Dual, Blue スタンダード] 着色済みスタンダードを泳動したゲルを蛍光染色(Oriole, Flamingo, SYPRO Ruby など)や銀染色するとうまくバンドを検出できませんでした。蛍光染色や銀染色では、どのような分子量スタンダードが推奨されますか。	着色済みスタンダードを泳動したゲルを蛍光染色(Oriole, Flamingo, SYPRO Ruby など)するとバンドが白抜けして染色されますが、これは各バンドに結合している色素により、染色剤の蛍光が阻害されたためと考えられます。また、着色済みスタンダードを泳動したゲルを銀染色すると、レーン全体が染色されたような結果となりますが、これはタンパク質量が多すぎたためと考えられます。 蛍光染色や銀染色では、分子量スタンダードとして必ず未着色タイプ(1610363 プレシジョン Plus スタンダード[未着色] など)をご使用ください。アプライ量はミニゲルで 1～3uL 程度が推奨されます(参考:CBB 染色での推奨量は 10uL)。
11	[プレシジョン Plus Dual, Blue スタンダード] ウエスタンブロッティングで検出した時、スタンダードのバンドまでも検出されてしまいました。	ウエスタンブロッティングの検出方法によって、考えられる原因が異なります。 ・化学発光または発色法の場合 使用されている 1 次抗体もしくは 2 次抗体が、分子量スタンダードのバンドと反応してしまったことが予想されます。 ターゲットとなるタンパク質は恐らく fg～pg オーダーと微量なのに対して、分子量スタンダードのタンパク質は ug オーダーで泳動されています。このようにターゲットに対して大過剰量あるタンパク質でもあるため、分子量スタンダードのバンドでは非特異的な結合が起きやすい状態にあると言えます。 もし、反応することに問題がある場合には、分子量スタンダードのレーンを切り離してから、抗原抗体反応を行ってください。 ・蛍光法の場合 標識してある色素のもつ蛍光によって、Dual スタンダードのバンドは蛍光で検出されます。各バンドの励起条件は次のようになりますので、ターゲットの検出に適したアプライ量で泳動してください。 青色のバンド: 635 nm レーザーまたは赤色 LED にて検出可能 赤色のバンド: 532 nm レーザーまたは緑の LED にて検出可能(デュアルエクストラの 2k バンドは除く)
12	[SDS-PAGE スタンダード] 販売終了となっていますが、代替品はありますか。	●SDS-PAGE スタンダード(Broad(1610317)、Low(1610304)、High(1610303)) いずれも天然タンパク質を用いて調製した分子量スタンダード(未着色)でしたが、後継品として組み換えタンパク質を用いた次の未着色スタンダードをご使用ください。検出されるバンドのサイズは異なりますが、同様の分子量範囲を網羅する事ができます。 1610363 プレシジョン Plus スタンダード ●プレステインド SDS-PAGE スタンダード(Broad(1610318)、Low(1610305)、High(1610309))、カレイドスコープスタンダード(1610324) いずれも天然タンパク質を用いて調製した着色済み分子量スタンダードでしたが、後継品として組み換えタンパク質を用いた次のような着色済みスタンダードをご使用ください。検出されるバンドのサイズは異なりますが、同様の分子量範囲を網羅する事ができます。 1610373 プレシジョン Plus ブルースタンダード

		1610374　プレシジョン Plus デュアルスタンダード 1610375　プレシジョン Plus カレイドスコープスタンダード ●SDS-PAGE ポリペプチドスタンダード(1610326)、カレイドスコープポリペプチドスタンダード(1610325) いずれも天然タンパク質を用いて調製したポリペプチド用の未着色と着色済みの分子量スタンダードでしたが、後継品として組み換えタンパク質を用いた次の着色済みスタンダードをご使用ください。デュアルエクストラには、2k, 5k, 10k バンドもある事から、低分子量のバンドの検出にも利用する事ができます。残念ながら、このサイズ域をカバーする未着色の分子量スタンダードのご用意はございませんので、どうぞご了承ください。 1610377　プレシジョン Plus デュアル エクストラ スタンダード 各分子量スタンダードの分離パターン例
13	[プレミックスバッファー] トリスを含むプレミックスバッファーが黄色に変色してしまいました。	トリスの酸化による変色です。 そのままご使用されても、使用期限内の製品であれば、SDS-PAGE やブロッティング等の電気泳動の実験に通常は影響ありません。変色を防ぐには、冷暗所での保管が推奨されます。 なお、使用期限（製品到着後、未開封な状態で1年間）を過ぎたバッファーについては、新しいプレミックスバッファーをご購入されることを推奨いたします。
14	[2x Laemmli サンプルバッファー] 還元条件下の SDS-PAGE を実施する場合、どの程度の還元剤を添加すればよいですか。	次のようにサンプルを調製してください。 ただし、還元剤は劣化しやすいため、使用直前に混合して調製してください。 (1) 2-メルカプトエタノールの場合 サンプルと混合後の終濃度 2.5% (355mM) サンプルバッファー950ul に対して 2-メルカプトエタノール 50ul を添加します。 (2)DTT の場合 サンプルと混合後の終濃度 50-100mM DTT の添加方法には特に指定はありませんが、例えば次のような調製方法が考えられます。 ・DTT 粉末を小分け冷凍保存 マイクロチューブに DTT 粉末 31mg を小分けして、冷凍保存しておきます。 これをたくさん調製しておき、使用時に取り出して 2xLaemmli サンプルバッファーを 1ml 入れて溶解しすれば、DTT 濃度は 200mM となります。 この Laemmli サンプルバッファーをサンプルと 1:1 で混合すると、DTT の終濃度は 100mM となります。 余ったサンプルバッファーは廃棄します。なお、実際に秤量した DTT 量をチューブに記録しておき、その誤差分を溶解するサンプルバッファーの量で調整すると、より正確に DTT 濃度をコントロールできます。 ・濃い DTT 溶液を調製して冷凍保存 マイクロチューブに 1M DTT 溶液を小分け分注し、冷凍保存しておきます。 これをたくさん調製しておき、使用時に取り出して 2xLaemmli サンプルバッファーを 1ml に対して 100uL を添加すれば、DTT 濃度は 100mM となります。 この Laemmli サンプルバッファーをサンプルと 1:1 で混合すると、DTT の終濃度は 50mM となります。 余ったサンプルバッファーは廃棄します。溶液状態の DTT は冷凍保存することである程度は保存可能ですが、定期的には調製しなおすことをお勧めします。

#	Question	Answer
15	[4x Laemmli サンプルバッファー] 還元条件下の SDS-PAGE を実施する場合、どの程度の還元剤を添加すればよいですか。	次のようにサンプルを調製してください。 4x Laemmli サンプルバッファー900ul に対し、2-メルカプトエタノールを 100ul 加えます。 1:3 でサンプルと混合すると、2-メルカプトエタノールの終濃度は 2.5%(355mM)となります。 DTT の場合は、サンプルと混合後の終濃度が 50-100mM となるように 4x Laemmli サンプルバッファーに添加します。 例えば、DTT 31mg を 4x Laemmli サンプルバッファー1ml で溶解してください。 1:3 でサンプルと混合すると、DTT の終濃度は 50mM となります。 また、還元剤は劣化しやすいため、使用直前に混合して調製してください。 4x Laemmli サンプルバッファー取扱説明書
16	[Bio-Safe CBB G-250 ステイン] タンパク質をブロッティングした後の PVDF メンブレンを Bio-Safe で染色することはできますか。	Bio-Safe でメンブレン(PVDF 膜)を染色することも可能です。 方法は、ゲルと同様の手順で染色し、脱色は 40%メタノール水溶液で行ってください。 1) 精製水による洗浄(5 分 x 1 回) 2) Bio-Safe による染色(1 時間以上 x 1 回) 3) 40%メタノール溶液による脱色(15 分 x 2 回) 4) PVDF メンブレンをキムワイプなどの上で乾燥させます。 (メンブレン上の溶液をそのまま乾燥させるとバックグラウンドが高くなるので、できるだけキムワイプに吸わせるようにしてください) ニトロセルロースメンブレンは、高濃度のメタノールへの耐性が小さいためお勧めできません。ニトロセルロースメンブレンを染色する時は、アミドブラックや金コロイド等をお使いいただくことをお勧めします。 Bio-Safe CBB G-250 ステイン取扱説明書

Visit **bio-rad.com/ja-jp/lsg/product-manuals-jp** for more information.

BIO-RAD バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

ライフサイエンス **www.bio-rad.com**

本社 〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24 TEL : 03-6361-7000
※学術的お問い合わせは TEL : 03-6404-0331 MAIL: life_ps_jp@bio-rad.com

Z13688L 2405a