

そこが知りたい! 電気泳動 なるほど Q&A

改訂版



第2版発行に際して 大藤道衛

初版序 大藤道衛

電気泳動フローチャート

【基本編】

Qのテーマが主に
□ 核酸、□ タンパク質
であることを示す

1章 電気泳動の基礎知識 Q&A

- | | | | | | |
|---|----------------------------|-------|---|------|----|
| 1 | 電気泳動とはどんな実験法ですか？ | | □ | 大藤道衛 | 16 |
| 2 | 電気泳動を利用して何ができるのですか？ | | □ | 大藤道衛 | 18 |
| 3 | どうして電気泳動にはゲルを用いるのですか？ | | □ | 大藤道衛 | 20 |
| 4 | 電気泳動で分子のどんな情報がわかりますか？ | | □ | 大藤道衛 | 23 |
| 5 | タンパク質の電気泳動にはどんなものがありますか？ | | □ | 安達 伸 | 28 |
| 6 | 電気泳動で遺伝子の変異や多型を調べられますか？ | | □ | 大藤道衛 | 30 |
| 7 | いくつかの電気泳動法を組み合わせることはありますか？ | | □ | 安達 伸 | 34 |
| 8 | 電気泳動でタンパク質、核酸を分取できますか？ | | □ | 安達 伸 | 37 |
| 9 | 電気泳動された分子はどのように検出しますか？ | | □ | 大藤道衛 | 40 |

2章 準備・手法選択の Q&A

- | | | | | | |
|----|--|-------|---|------|----|
| 10 | 電気泳動で最初に用意するものは何ですか？ | | □ | 中田宣之 | 44 |
| 11 | 電気泳動実験で危険な試薬はありますか？ | | □ | 八田幸憲 | 46 |
| 12 | ゲルの種類の選択や設置方法（水平/垂直に設置）は
何で決まるのですか？ | | □ | 中田宣之 | 49 |
| 13 | 分子量スタンダードにはどんな種類がありますか？ | | □ | 中田宣之 | 51 |
| 14 | 電気泳動装置にはどのようなものがありますか？ | | □ | 中田宣之 | 53 |
| 15 | 電気泳動ではどんな操作が必要なのですか？ | | □ | 中田宣之 | 55 |
| 16 | PAGEでのゲル濃度の%Tと%Cって何ですか？ | | □ | 大藤道衛 | 57 |
| 17 | 染色試薬にはどのようなものがありますか？ | | □ | 中田宣之 | 60 |
| 18 | 泳動後ゲルからメンブレンになぜ転写するのですか？ | | □ | 大藤道衛 | 61 |

トピックス1 ここまで広がった電気泳動の応用

① 電気泳動による生体高分子の微量分析方法の歴史	大藤道衛	64
② エピジェネティクスと電気泳動	秋山好光	68
③ 電気泳動による微生物叢解析	須田 亘	71
④ 電気泳動で広がる遺伝子リテラシー教育	大藤道衛, Laurie Usinger	75

【実践編】

3章 緩衝液・ゲル作製のQ&A

19 ゲル濃度は、どのように決めればよいのですか？	大藤道衛	80
20 アガロースゲルをうまく作製するコツはありますか？	八田幸憲	83
21 アガロースゲル電気泳動では、どのような緩衝液を 使用したらよいのですか？	八田幸憲	85
22 タンパク質の電気泳動では濃縮ゲルがあるのに、 なぜアガロースゲルではないのですか？	中田宣之	87
23 PAGEのゲルが固まりません。何が原因ですか？	八田幸憲	88
24 PAGEでは、どのような緩衝液を使用したらよいのですか？	八田幸憲	91
25 ペプチドはタンパク質と同じ緩衝液でいいのでしょうか？	中田宣之	94
26 アクリルアミドの純度は電気泳動に影響しますか？	緒方訓子	95
27 PAGE用の既製ゲルを用いる利点は何ですか？	山本謙治	97
28 DGGEのゲルをうまく作製するコツはありますか？	八田幸憲	99
29 SSCPのゲルをうまく作製するコツはありますか？	大藤道衛	102

4章 サンプル調製と泳動のQ&A

30 電気泳動を行う際の標準的なサンプル量や濃度はどのくらいですか？	中田宣之	104
31 タンパク質サンプルの調製で注意すべきことは何ですか？	中田宣之	106
32 サンプルをウェルへ上手く添加するコツはありますか？	中田宣之	108
33 タンパク質の泳動中に分離状態を見ることはできませんか？	安達 伸	109
34 サンプルがレーン幅より細く泳動されたり、太く泳動されたりしました。 どうしてでしょう？	緒方訓子	111
35 サンプルバッファーとサンプルを混ぜて泳動したら、 青紫と青のバンドに分かれました。なぜですか？	伊藤 聰	113
36 サンプルバッファーとサンプルを混ぜたところ黄色になりました。 どうしてでしょうか？	伊藤 聰	115
37 膜タンパク質を泳動したいのですが、どうしたらよいでしょうか？	山本謙治	116
38 タンパク質の泳動レーンにより泳動速度が違ったり、 バンドに歪みがみられます。原因は？	安達 伸	118
39 DNAやRNAの泳動で、レーンにより泳動速度が違ったり、 バンドが尾を引きます。原因は？	八田幸憲	121
40 電気泳動するときの電流・電圧の設定はどうしたらいいのですか？	緒方訓子	125
41 スイッチを入れたのですが、泳動されません。	伊藤 聰	128

- 42** 定電圧で泳動していたのに、途中で定電流になってしましました。
どうしてでしょうか? □ P 伊藤 聰 130
- 43** 泳動中にガラス板が割れてしまいました。原因は何でしょうか? □ P 緒方訓子 132
- 44** 泳動が異常に速く分離できないことや、逆に異常に遅い場合があります。 □ P 伊藤 聰 134
- 45** 泳動パターンに縦方向のスジが入る、もしくは横方向へ
バンドが広がってしまいます。どうしてでしょうか? □ P 安達 伸 136
- 46** 一本鎖核酸は、なぜ泳動前に熱処理が必要なのですか? □ P 大藤道衛 138
- 47** SSCPの非特異バンドはどのように除きますか? □ P 大藤道衛 140
- 48** DGGEでは、なぜGCクランプが必要ですか? □ P 大藤道衛 144

5章 ブロッティング手法のQ&A

- 49** サザン・ノーザン・ウエスタンブロッティングに用いるメンブレンとして
適切なものは何ですか? □ P 伊藤 聰 147
- 50** ナイロンメンブレンに核酸を転写するとき、
UVの照射はなぜ必要ですか? □ P 伊藤 聰 149
- 51** ブロッティング装置は、タンク式とセミドライ式の
どちらを選択すればよいですか? □ P 安達 伸 150
- 52** ブロッティング時の電気条件はどうしたらよいのでしょうか? □ P 安達 伸 153
- 53** 転写バッファーにはどういうものがありますか? □ P 山本謙治 155
- 54** 転写バッファーにSDSを加えた方がよいのでしょうか? □ P 緒方訓子 158
- 55** 転写バッファーにメタノールを加えた方がよいのでしょうか? □ P 緒方訓子 159
- 56** 転写時間が長いほど、より多くのタンパク質が
メンブレンに移りますか? □ P 山本謙治 160
- 57** ブロッティングで斑ができます。どうしてでしょうか? □ P 安達 伸 162
- 58** うまく転写されませんでした。どうしてでしょうか? □ P 伊藤 聰 164
- 59** ブロッティング中に発熱があり、高温になります。
どうしたらよいでしょうか? □ P 安達 伸 166
- 60** サザン・ノーザンブロッティングでの転写効率のよい方法は何ですか? □ P 伊藤 聰 168
- 61** イムノブロッティング実験を途中で止めるとしたら
どこがよいでしょうか? □ P 緒方訓子 170
- 62** イムノブロッティングでバックグラウンドが高くなってしまいます。
また、予想されるバンドが出ないことがあります。 □ P 緒方訓子 172

トピックス2 ここまで進んだ電気泳動の技術

- ① タンパク質の高分離・高感度電気泳動 (TGXゲル) Kate Smith 174
- ② マイクロ流路チップを用いた電気泳動による遺伝子解析 大藤道衛, Marie Nguyen 176
- ③ 解析だけでなくサンプル調製法としてのパルスフィールドゲル電気泳動 副島正年 181
- ④ 未変性タンパク質を分離するBlue-Native電気泳動 中田宣之 184
- ⑤ システム化されたウエスタンブロッティング解析 中田宣之 185

6章 汎用的な検出手法のQ&A

- 63 CBB染色では、固定の必要は本当にあるのでしょうか？
また、染色後、脱色しなければいけないのですか？ □ P 中田宣之 187
- 64 CBB染色にて脱色したところ、ゲルの表面に不均一な汚れが生じました。
これは何でしょうか？ □ P 中田宣之 189
- 65 染色液・脱色液の量はゲルが浸るくらいでよいでしょうか？ □ P 中田宣之 191
- 66 染色液・脱色液が容器からこぼれそうなので、
緩やかな振盪を行いたいのですが、何か問題はありますか？ □ P 中田宣之 192
- 67 CBB染色で低分子タンパク質が見えません。どうしたらよいですか？ □ P 中田宣之 194
- 68 CBB染色や銀染色したゲルの画像取り込みは、
市販の画像スキャナーでよいでしょうか？ □ P 中田宣之 196
- 69 EtBr染色で、先染め後染めをどのように使い分ければよいですか？ □ P 大藤道衛 198
- 70 銀染色がうまくいかなかったのですが再染色しても
いいですか？ □ P 安達 伸、大藤道衛 203
- 71 銀染色で見やすいバンドを得るコツは何ですか？ □ P 大藤道衛 206
- 72 銀染色で細い縦方向の線のような汚れがみられます。
これは何でしょうか？ □ P 中田宣之 209
- 73 銀染色は、アガロースゲルでも使えますか？ □ P 大藤道衛 211
- 74 染色ゲル中のDNAを抽出してPCRできますか？ □ P 大藤道衛 213

7章 高感度検出手法のQ&A

- 75 銀染色並の感度が簡単に得られる染色方法はありますか？ □ P 山本謙治 215
- 76 蛍光染色にはどんな種類のものがありますか？ □ P 中田宣之 217
- 77 カッパーステインによる高感度検出のコツは？ □ P 伊藤 聰、大藤道衛 218
- 78 染色したタンパク質、DNAを銀染色できますか？ □ P 大藤道衛 220
- 79 イムノプロッティングの検出にはどのような方法がありますか？ □ P 山本謙治 223
- 80 X線フィルムと専用検出機器を使ったときの違いは何ですか？ □ P 中田宣之 227

[付録]

- ① 電気泳動装置のラインナップと使用目的相関図 大藤道衛 230
- ② 電気泳動実験簡易プロトコール 大藤道衛 234
- ③ 電気泳動書き込み用紙 大藤道衛 240
- ④ 電気泳動関連の参考書 大藤道衛 243
- 索引 245