

1. 본 제품을 안전하게 사용하기 위한 주의 사항

본 제품을 안전하게 사용하기 위해 우선 본 설명서를 잘 읽어 주십시오. 본 취급 설명서의 내용을 충분히 이해하기 까지 조작은 피해 주십시오. 또한 본 취급설명서는 본 제품을 지정 목적에 사용하는 방법만을 기재하고 있습니다. 본 사용설명서에 기재되어 있지 않은 목적, 사용으로는 이용하지 말아 주십시오. 만일, 본 사용설명서에 기재되어 있지 않은 목적, 방법으로 사용하신 경우, 필요한 안전 대책 및 예측 불허한 사태에 대해서는 모두 조작하시는 분의 책임이 됩니다. 또한, 동시에 사용하는 장치의 설명서도 잘 읽고 숙지 후 사용해 주십시오.

2. 사용목적

본 제품은 Laemmli *법에 준거한 단백질 전기 영동 폴리 아크릴 아마이드 겔의 농축 겔을 제조 할 때 사용 하는 겔 완충액 (4배농도) 입니다. 본 제품 과 Acrylamide/bis 및 중합 개시제 (APS)과 중합촉진제 (TEMED) 를 혼합하여 폴리 아크릴 아마이드 겔의 농축 겔을 제작합니다.

*Laemmli UK (1970), Nature 227 (5259): 680-685

3. 본 제품의 구성

| 명칭 | 용량 | 개수 |
|-------------|--------|----------|
| EzGel Stack | 250 mL | 1 bottle |

4. 조성

| 명칭 | 주성분 |
|-------------|----------------------|
| EzGel Stack | 0.5M Tris-HCl/pH 6.8 |

본 제품은 독극물 단속 법의 독극물이나 극약 물질, 노동 안전 위생 법, PRTR법 지정 화학 물질의 제외 규정량을 넘는 통보 대상물은 포함되어 있지 않습니다.

5. 보존방법

- 본 제품은 실온 보관하세요. 장기적으로 안전하게 보존하기 위해서는 냉장에서 저장하는 것을 추천합니다.
- 사용 기한은 병 라벨에 기재되어 있습니다.

6. 폐기방법

- 각 시약의 폐기는 각 소속 기관의 폐기 방법에 준거하십시오.

7. 본 제품 이외에 필요한 것

- EzGel Sep (분리 겔 완충 용액)
- Acrylamide/bis 혼합물
- APS (과황산 암모늄)
- TEMED (N,N,N',N'-테트라 메틸 에틸렌 디아민)
- 전기 영동 장치
- 겔 제작기
- 파워 서플라이
- 영동용 완충 용액 등

8. 사용상의 주의

- 본 제품은 농축 겔 제작용 4배 농도인 겔 완충 용액입니다. 사용시에는 사용 방법에 따라서 용액을 제작하십시오.
- 사용 방법에 기재된 겔 조성표는 아토의 전기 영동 장치 등의 제품에 첨부된 취급 설명서에 기재되어 있는 조성표와는 약간 다릅니다. 본 제품 사용 때, 본 사용 설명서에 기재된 겔 조성으로 제작하는 것을 권장합니다.
- 본 제품은 실온 보관하세요. 장기간 안정적으로 보존하기 위해서는 냉장보관을 추천합니다.
- 분리 겔의 제작에는 EzGel Sep 을 사용하세요.

9. 사용 방법

9-1. 시약의 제조

① Acrylamide/bis 혼합물

Acrylamide/bis 혼합 용액은 분자량 범위에 따라서 일반적으로 19:1,29:1,37.5:1의 가교율의 용액이 사용됩니다. 가교율이 높은 용액일수록 저분자량, 또 가교율이 낮을수록 고분자량의 분획범위가 넓어 집니다. 사용 목적에 따라서 아래의 예를 참고로 선택하여 준비하십시오.

30(w/v)% Acrylamide/bis (29:1)용액

29 g의 아크릴 아마이드와 1 g의 N, N'-메틸렌 비스 (아크릴 아마이드) 을 측정후, 50 mL의 증류수에 용해합니다. 용해 후, 증류수로 100 mL에 맞춥니다.

30(w/v)% Acrylamide/bis (37.5:1)용액

29.22 g의 아크릴 아마이드와 0.78 g의 N, N'-메틸렌 비스 (아크릴 아마이드)을 측정하고, 50 mL의 증류수에 용해합니다. 용해 후, 증류수로 100 mL에 맞춥니다.

※아크릴 아마이드의 모노머에 신경 독성이 있으므로, 취급할 경우에는 장갑 등 신체를 보호하여 주십시오.

※Acrylamide/bis 용액은 30(w/v)% 아크릴 아마이드/bis(29:1)용액이나 30(w/v)%아크릴 아마이드/bis(37.5:1)용액 등이 시판되고 있습니다. 가교율이 높으면(=bis 의 비율이 많음)가교 구조가 늘어나고 격자 구조가 조밀하게 된 딱딱한 겔이 생기고 보다 저분자량 영역의 분획 명료하게 됩니다.

② 10% APS (과황산암모늄)

0.1 g의 APS을 측정하고,1 mL의 증류수에 용해합니다.

※10% APS는 점차 활성이 떨어지기 때문에, 필요할 만큼만 제작할 것을 추천합니다. 냉장실에서 1주일 정도 보존 가능합니다.

③ TEMED (N,N,N',N'-테트라 메틸 에틸렌 디아민)

원액을 그대로 사용합니다.

④ 영동용 버퍼(영동조용 전극액)

SDS처리 샘플의 SDS-PAGE에는 SDS를 포함한 영동용 장치를 준비합니다. SDS 처리를 하지 않은 샘플의 경우에는 영동용 버퍼에 SDS가 필요하지 않습니다.

9-2. Gel 제작

1. 젤 성분표에 따라 본 제품과 아크릴 아미드 / bis 용액 및 증류수를 혼합하여 분리 젤과 농축 젤 용액을 제작합니다.
 ※APS와 TEMED 이외의 용액을 혼합합니다.
 ※분리젤의 제작에는 **EzGel Sep** 을 사용하세요.
2. 젤 성분표에 따라 분리 젤 용액에 APS와 TEMED를 첨가하여 거품이 생기지 않도록 혼합합니다.
3. 전기영동 플레이트에 분리 젤 용액을 신속하게 흘려 넣어줍니다.
 ※영동조 및 젤 casting 장치의 사용방법은 각 제조 업체에 문의하십시오.
4. 계면이 방해되지 않도록 조심스럽게 증류수를 증충 합니다 (0.2 ~ 1.0 mL).
 ※아크릴 아미드의 경우 산소가 있으면 중합이 방해되므로 증류수를 증충 하여 공기 중의 산소를 차단 합니다.
5. 실온에서 30 분 이상 방치하여 분리 젤 을 중합합니다
 ※ 젤의 계면이 명료하게 보인는지 확인 하십시오. 중합 시간은 계절이나 온도에 따라 달라집니다. 20 ℃ 이하에서는 중합이 어려워지므로 주의하시기 바랍니다.
6. 증충한 증류수를 종이타월 등으로 흡수시켜 완전히 제거합니다.

7. 젤 성분표에 따라 농축 젤 용액에 APS 와 TEMED를 첨가하여 거품이 일어나지 않도록 혼합 합니다.
8. 분리 젤 위에 농축젤을 신속하게 증충하고 , Comb을 꽂습니다.
9. 실온에서 30 분 이상 방치하여 농축젤을 중합합니다

9-3. 전기영동

1. 전기 영동 버퍼를 준비 합니다. 각종 영동 버퍼를 사용 할 수 있습니다.
- 단백질 : **EzRun** (Tris/Glycine/SDS), **EzRun MOPS**, **EzRun TG** 등
2. 젤 전기 영동 장치에 넣고 전원 공급 장치를 연결합니다.
3. 셋팅이 완료되면 리드선을 연결하여 전기 영동 합니다.

《권장영동조건》 · · · 영동시간기준

| | 영동버퍼 | 영동조건 | Mini-gel | Compact-gel |
|-----|-------------------|------|----------|-------------|
| 단백질 | EzRun | 150V | 75 ~ 80분 | 25~30분 |
| | EzRun MOPS | 250V | 20~25분 | 10~15분 |

10. Gel 성분표

분리 젤 의 제작 에는 **EzGel Sep**, 농축 젤 의 제작 에는 **EzGel Stack** 을 사용하십시오.

| gel 농도 | 분리 젤 (10 mL) | | | | | 농축 젤 (5mL) |
|--------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|------------|
| | 5% | 7.5% | 10% | 12.5% | 15% | |
| 증류수 | 5.8 mL | 5 mL | 4.2 mL | 3.3 mL | 2.5 mL | 3.6 mL |
| 30% 아크릴아미드 / bis | 1.7 mL | 2.5 mL | 3.3 mL | 4.2 mL | 5 mL | 0.75 mL |
| 젤 완충액 EzGel Sep | 2.5 mL | 2.5 mL | 2.5 mL | 2.5 mL | 2.5 mL | - |
| 젤 완충액 EzGel Stack | - | - | - | - | - | 0.6 mL |
| 10% APS | 0.075 mL | 0.075 mL | 0.05 mL | 0.05 mL | 0.05 mL | 0.05 mL |
| TEMED | 0.005 mL | 0.005 mL | 0.005 mL | 0.005 mL | 0.005 mL | 0.0025 mL |

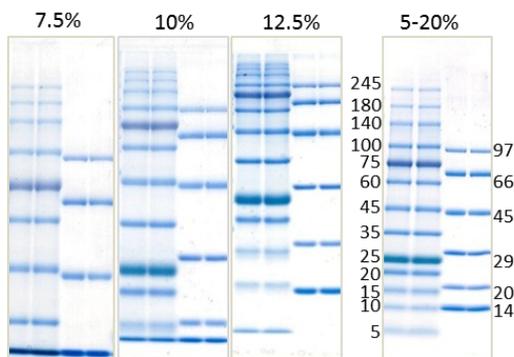
※ 1 개의 미니 젤 크기에 필요한 용량 입니다.

《젤 농도와 분획 범위》

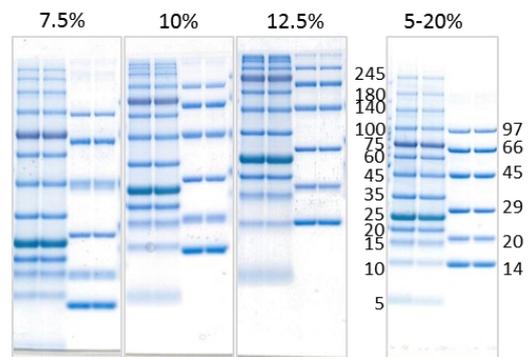
| 젤 농도 | (단백질) 분획 | |
|-------|-------------|----------------|
| | 분자량 범위 | (핵산) 분획 분자량 범위 |
| 5% | 80~400 k Da | |
| 7.5% | 40~200 k Da | 750~3000 bp |
| 10% | 20~130 k Da | 150~2000 bp |
| 12.5% | 14~80 kDa | 70~1800 bp |
| 15% | 10~60 kDa | 50~1500 bp |

※ 30(W/V)% 아크릴아미드/bis(37.5:1) 용액의 경우

11. 전기영동패턴



EzRun (Tris/Glycine/SDS) 영동버퍼사용



EzRun MOPS 영동버퍼사용



アト一株式会社

主要製品

- ペリスタポンプ
- クロマトグラフ

- DNA分析装置
- 画像分析システム
- 発光分析装置
- バイオ研究機器

■本 社 〒111-0041 東京都台東区元浅草3-2-2
 ◆技術サービス
 ■技術開発 〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6
 センター (東京都許可 医療機器製造業)

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

Tel (03) 5827-4861 (代表) Fax (03) 5827-6647
 Tel (03) 5827-4873 (代表) Fax (03) 5827-4874
 Tel (03) 5818-7560 (代表) Fax (03) 5818-7563