

## 1. 본 제품을 안전하게 사용 하기 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 않는 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 전기영동용 폴리 아크릴 아미드 겔의 분리겔을 제작할 때 사용하는 겔 완충 용액 (4배농도)입니다. 본 제품과 Acrylamide/bis 및 중합 개시제(APS)와 중합 촉진제(TEMED)를 혼합하여, 폴리 아크릴 아미드 겔의 분리 겔을 제작합니다.

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

## 3. 본 제품의 구성

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

## 4. 조성

| 명칭        | 주성분                  |
|-----------|----------------------|
| EzGel Sep | 1.5M Tris-HCl/pH 8.8 |

본 제품은 독극물 단속 법의 독극물이나 극약 물질, 노동 안전 위생법, PRTR법 지정 화학 물질의 제의 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 Stack (농축 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 분리 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 기재의 겔 조성에서 제작하는 것을 권장합니다.
- 본 제품은 실온 보관하세요. 장기간 안정적으로 저장하기 위해서는 냉장보관을 추천합니다.
- 농축 겔의 제작에는 EzGel Stack 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 분획 범위가 넓어집니다. 사용 목적에 따라서 아래의 예를 참고로 선택하여 준비하십시오.

#### 30(w/v)% Acrylamide/bis (29:1)용액

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

#### 30(w/v)% Acrylamide/bis (37.5:1)용액

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

※아크릴 아미드의 모노머에 신경 독성이 있으므로, 취급할 경우에는 장갑 등으로 신체를 보호 하십시오.

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

#### ② 10% APS (과황산암모늄)

0.1 g의 APS를 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 제작 합니다.

※APS와 TEMED 이외의 용액을 혼합합니다.

※농축젤의 제작에는 **EzGel Stack** 을 사용하세요.

2. 젤 성분표에 따라 분리 젤 용액에 APS 와 TEMED 를 첨가하여 거품이 생기지 않도록 혼합 합니다.

3. 전기 영동 플레이트에 분리 젤 용액을 신속하게 흘려 넣어 줍니다.

※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 젤을 중합합니다

※ 젤의 계면이 명료하게 보이는지 확인 하십시오. 중합 시간은 겔 절이나 온도에 따라 달라집니다. 20 ℃ 이하 에서는 중합 어려워지므로 주의하시기 바랍니다.

6. 증충한 증류수를 종이타월등으로 흡수시켜 완전히 제거합니다.

7. 젤 성분표에 따라 농축 젤 용액에 APS 와 TEMED를 첨가하여

거품이 일어나지 않도록 혼합 합니다.

8. 분리 젤 위에 농축 젤을 신속하게 증충하고 , Comb 끼웁니다.

9. 실온에서 30 분 이상 방치하여 농축 젤 을 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 | <b>EzRun</b>      | 150V | 75 ~ 80분 | 25~30분      |
|     | <b>EzRun MOPS</b> | 250V | 20~25분   | 10~15분      |

## 10. Gel 성분표

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

|                          | 분리 젤 (10 mL) |          |          |          |          | 농축 젤 (5mL) |
|--------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|------------|
| gel 농도                   | 5%           | 7.5%     | 10%      | 12.5%    | 15%      | 4.5%       |
| 증류수                      | 5.8 mL       | 5 mL     | 4.2 mL   | 3.3 mL   | 2.5 mL   | 3.6 mL     |
| 30% 아크릴아미드/<br>bis       | 1.7 mL       | 2.5 mL   | 3.3 mL   | 4.2 mL   | 5 mL     | 0.75 mL    |
| 젤 완충액 <b>EzGel Sep</b>   | 2.5 mL       | 2.5 mL   | 2.5 mL   | 2.5 mL   | 2.5 mL   | -          |
| 젤 완충액 <b>EzGel Stack</b> | -            | -        | -        | -        | -        | 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  |

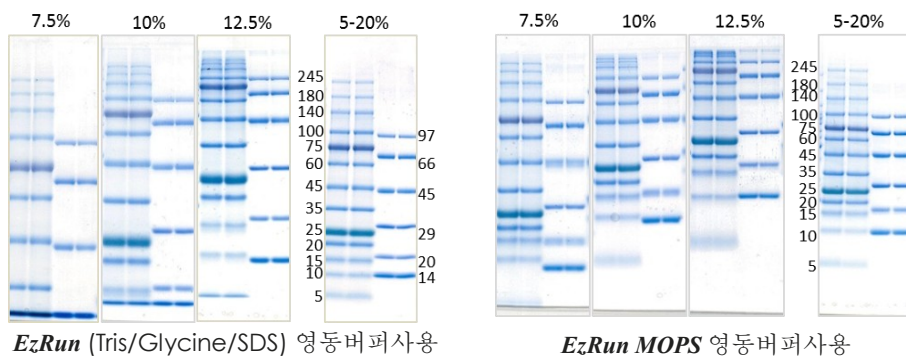
※ 1 개의 미니 젤 크기 에 필요한 용량 입니다.

### 《젤 농도와 분획 범위》

| 젤 농도  | ( 단백질 ) 분획<br>분자량 범위 | ( 핵산 ) 분획<br>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



# アトー株式会社

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)

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