

## サンプルの調製方法

試料はなるべく塩濃度を下げて調製して下さい。塩濃度は 10 mM 以下が理想です。

抽出液の組成は後述のものを推奨いたします。別の組成がよろしい時、または別のサンプル調製方法を用いる時は、事前にご相談下さい。

### 1. 実験動物などの組織の場合

1. 組織を採取します。

\* 組織は採取後すぐに解析しない場合は、-80℃で保存して下さい。

2. 組織を秤量し、その湿重量に対して2倍から10倍量の抽出液を加えます。

3. 氷中で冷やしながら組織をすりつぶします。

4. (重要) 遠心機で遠心します。Gはお持ちの遠心機で可能な限りで構いませんが、試料中の脂質、塩、核酸などは電気泳動パターンの乱れの原因になります。出来るだけ不純物は除去して下さい。

5. 上清を採取し、これを試料とします。

### 2. 培養細胞の場合

1. 浮遊した状態で培養された細胞は、5000 rpm で5分間程遠心して細胞を集め、氷冷したPBSで再懸濁して遠心する形で3回洗浄して、培地に由来するタンパク質を除きます。

接着して増える細胞の場合は、培地を除いて、氷冷したPBSで2回容器内壁を洗浄し、氷上でプラスチックレーパーなどを用いて細胞を掻き集めて、5000 rpm で5分間程遠心します。

2. できるだけ完全にPBSを除き、細胞重量を量ります。

3. 細胞の湿重量に対して2倍から4倍量の抽出液を加えて、氷冷下で超音波破碎します。

4. (重要) 遠心を行って上清を採取し、これを試料とします。遠心時のGはお持ちの遠心機で可能な限りで構いませんが、試料中の脂質、塩、核酸などは電気泳動パターンの乱れの原因になります。出来るだけ不純物は除去して下さい。

### 抽出液の組成

尿素	0.30 g
チオ尿素	0.15 g
20%(w/v)CHAPS	0.10 ml
dithiothreitol (DTT)	0.01 g
Pharmalyte (ゲルのpHに合わせる)	0.02 ml
プロテアーゼインヒビター	適量

以上を Mili-Q 水で 1.00 ml にメスアップする

\* Pharmalyte、プロテアーゼインヒビターに限っては、お持ちでない場合は入れなくても構いません。ご使用にならなかった場合は、サンプル依頼書にその旨ご記入下さい。