

PUREfrefx[®] (#PF001) に添付のDHFR DNAを用いてタンパク質合成を行い、合成産物の検出を行った方法とその結果を記載しております。

【タンパク質合成】

キットに添付の説明書に記載の方法で、20 μ Lの反応液を調製し、37 $^{\circ}$ Cで2時間反応させました。

【SDS-PAGEの方法と結果】

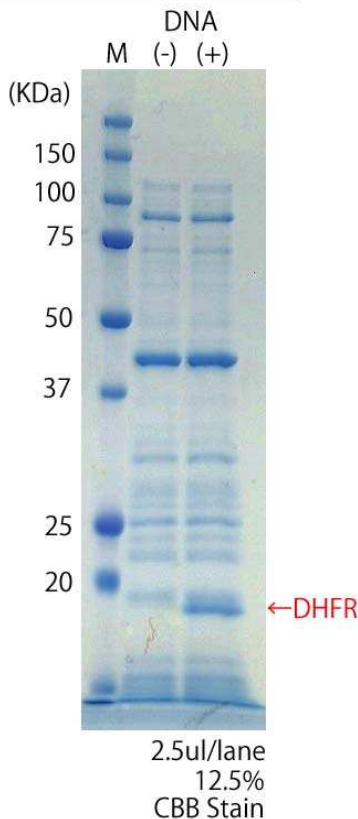
<方法>

合成産物を等量の水で希釈した後、SDS-PAGE用のサンプルを調製しています。

1. タンパク質合成反応後、反応液をスピンドウン（室温）しチューブの底に集めた。
2. 反応液20 μ LにH₂O 20 μ Lを添加した。
3. 2の反応液 (+H₂O) 40 μ Lに3xサンプルバッファー*を20 μ L添加し、サンプルを調製した。
4. 3のサンプルを95 $^{\circ}$ Cで5分間熱処理をした。
5. スピンドウン（室温）しチューブの底に集めたサンプル（60 μ L）から3 μ LをSDS-PAGEに供した。

<結果>

PUREfrefx reaction solution



ゲル：長寿ゲル 12.5% (オリエンタルインスツルメンツ/HON-125-17)

染色：CBB染色/SimplyBlue SafeStain (Invitrogen/LC6065)

泳動条件：300V, 35mA, 47分泳動後、染色・脱染色

* 3xサンプルバッファー (10 mL)

1M Tris-HCl (pH=6.8) 1.5 mL

Glycerol 3 mL

SDS 0.6 g

2-Mercaptoethanol 0.6 mL

BPB 適量

(H₂Oでメスアップ)