

## 06 プレラン (ゲルの浄化、フリーラジカルの除去、還元化)

どの次元の電極も上をプラス、下をマイナスに繋ぎ、プレランする。  
プレランによって、TEMED、APS や acrylamide, BIS, urea などに含まれるイオン性の不純物が除去される。またラジカル・スカベンジャーとして加えられる MEA の泳動によってフリーラジカルが消去されるが、それだけでなく MEA が還元剤として働き、ゲル中の環境を還元的にする。

### ◀ 0D プレラン ▶

#### 手順 1

0D 50x gel buffer 2 ml, 2mercaptoethylamineHCl (MEA) 1 g, 10M urea 70 ml /final 100 ml を作成し、上部バッファー槽に加える。0D 50x gel buffer 2 ml / final 100 ml を作成し、下部バッファー槽に加える。

#### 手順 2

100VCV 1 hr 室温で泳動する。TEMED が抜け、ゲル中の pH が 5.5 になる。

### ◀ 1D プレラン ▶

#### 手順 1

1D 4x buffer 50 ml, 2mercaptoethanol (ME) 1 ml, 10M urea 140 ml / final 200 ml を作成し、100 ml を下部バッファー槽に加える。残り 100 ml に MEA 1 g を溶かし、上部バッファー槽に加える。

#### 手順 2

100VCV 6 hr 室温で泳動する。

### ◀ 2D プレラン ▶

#### 手順 1

2D gel 10x buffer 40 ml, MEA 2 g, 10M urea 280 ml / final 400 ml を作成し、上部バッファー槽に加えて、ふたをする。

2D gel 10x buffer 40 ml / final 400 ml を作成し、下部バッファー槽に加えて、細長いふたをする。

## 手順2

小型ファンでゲルコンテナ間の隙間に向かって送風する。この送風を怠るとジュール熱でゲルに亀裂が生ずる。

## 手順3

100VCV 15 hr 室温で泳動する。出発時 200 mA 超だが、徐々に下がっていき 15 hr 後には 100 mA 以下になる。15 hr 未満でも 100 mA 以下になれば終了してよい。