

培養細胞からのタンパク質の回収 (SDS - PAGE 用)

1. 各種の処理が済んだら、速やかにカバーガラスを取り出し、PBS で2回リンス。(アルブミンを洗い落とすため)
2. 余分の PBS をキムワイプで吸い取り、シャーレのふた(乾いている容器の意)にカバーガラスをのせる。
3. SDS - PAGE 用サンプルバッファー 200 μ l をガラスにたらす。
4. 1~2分後、溶液を 1.5 ml エッペンチューブに回収し、氷冷。(全部回収できたかどうかは顕微鏡で確認、放置時間は1分以下でも可)
5. ウォーターバスで煮沸、3分。
6. 自然放冷。(温度は結果に影響しない。手で持てる程度まで)
7. 超音波 10 回で DNA を切断。(DutyCycle 50%, OutputControl 5, Timer ca.4)
8. 遠心、flash。 溶液の粘性が十分に下がっていないときは、さらに超音波をかける。
9. サンプルは使用するまで、-20 で保存。