

アクチン結合

01.8.16

Stock Solution

3 M KCl
5 M NaCl
1 M Tris-Cl (pH 7.4) or (pH 7.6)
14 mM 2-ME (100% MEは14.4 M)

Working Solution

incubation buffer

100 mM KCl (or 100 mM NaCl)
20 mM Tris-Cl (pH 7.4)
14 mM ME

Procedure

- 1 上記バッファーで透析する。
- 2 超遠心 (2600気圧 in airfuge、12万回転、25分) 後、上清を回収する。
- 3 上清とアクチン (最終濃度0.5 mg/ml) を室温で30分から1時間インキュベートする。
- 4 再び超遠心 (総量60 μ l) (最大量180 μ l)
- 5 上清を回収し沈澱も60 μ lのバッファーで溶解し、回収する。
- 6 上清および沈澱画分を電気泳動する。
 - 1 high molecular weight marker
 - 2 (only drebrin) supernatant
 - 3 (only drebrin) precipitate
 - 4 (drebrin + actin) supernatant
 - 5 (drebrin + actin) precipitate
 - 6 (only actin) supernatant
 - 7 (only actin) precipitate
 - 8 low molecular marker