

電気泳動槽内の温度の分離への影響

ゲル電気泳動では、泳動槽の性能により得られる結果に大きな差が出ます。(BTC Letter INS-003参照)

①上部バッファの温度上昇の影響を、ほとんど受けにくい

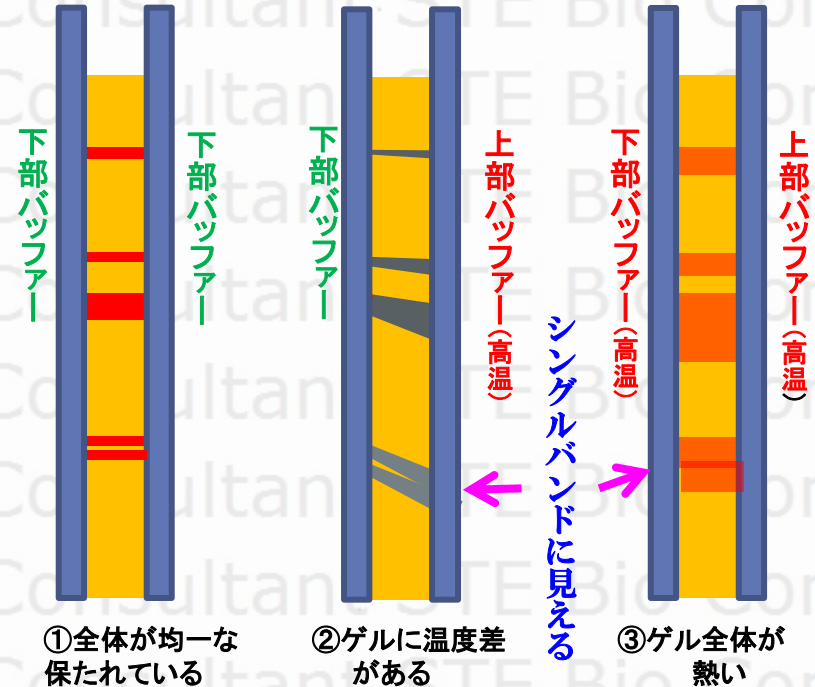
全体が均一な温度(中低温)に保たれている場合は、各成分は、より水平に泳動され、作成したゲルが本来持っている分離性能を落とすことなく、シャープな高い分離能の泳動像が得られます。

また、全体の温度が低いと、泳動が終了するまでが、やや長時間となりますが、ポアサイズが小さくなり、より高い分離能が得られます。

②上部バッファの温度上昇により、ゲルの両側に温度差が生じる

ゲルの上部バッファ側の温度が高く、外側の温度が相対的に低い場合には、バンドは斜めに泳動されます。泳動の終わったゲルを正面から見ると、バンドがブロードになったように見えます。

③上部と下部バッファの温度上昇が、ゲル全体の温度を上げる
ゲル全体の温度上昇により、バンドがブロードになる。原因としては、アクリルアミドゲルのポアサイズが広がることと考えられますが、温度が上昇することでタンパク質のミセル構造や3次元構造が変化すること考えられます。



- ②、③の条件下で電気泳動を行った場合、近接するバンドを「分離している」ことを確認できず、結果として、1本の成分と評価してしまいます。
- 精製産物の純度をゲル電気泳動で評価する際に、「誤ってシングルバンド」と判断した場合、未だ純度が低いのに、「高純度である」と判断することとなり、次のステップ(アミノ酸配列やモノクローナル抗体作成・ELISAなど)で問題が発生する可能性があります。