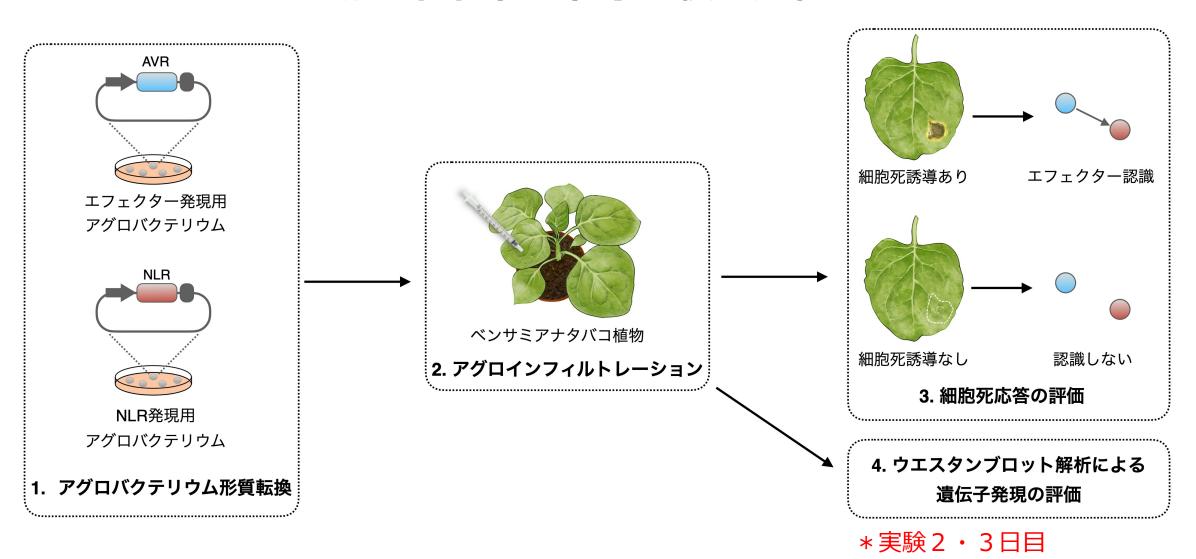
病害抵抗性遺伝子の機能解析~実験技術編~

栽培植物起原学 後期学生実習2日目

「実験実習の日程」

病害抵抗性遺伝子の機能解析



ベンサミアナタバコ葉からのタンパク質抽出

I. タンパク質発現



2. Pikm-2 HA

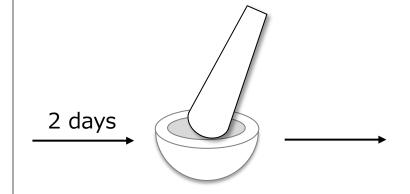
3. Pikp-1 (Myc)

4. Pikp-2



ベンサミアナタバコ植物

II. 凍結サンプルの破砕

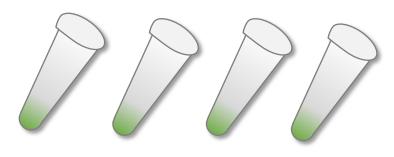


*注意点

- 1. 氷上で実験を実施
- 2. ボルテックスをしない
- 3. 白衣・手袋を着用

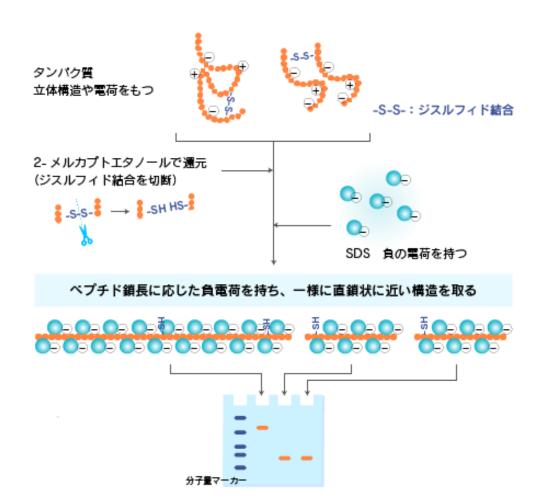
III. タンパク質の抽出

- 1. 抽出バッファーに懸濁
- 2. 氷上にて15分間静置
- 3. 4度、5,500 xg で10分間遠心



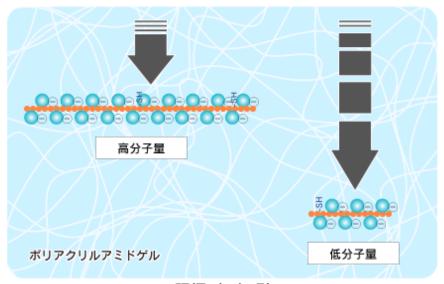
Pikm-1 Pikm-2 Pikp-1 Pikp-2

SDS-PAGE



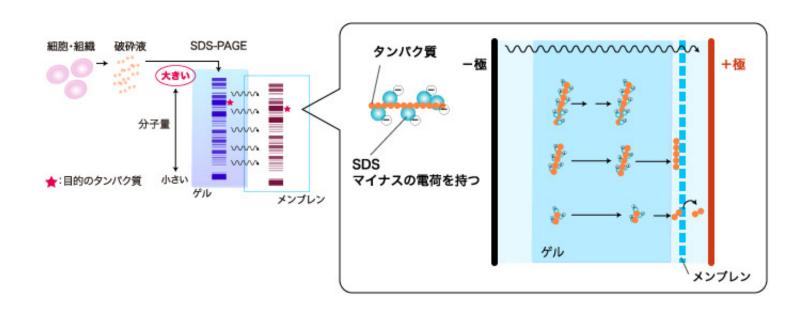
適切な大きさの網目構造をもつポリアクリルアミドゲル中で 電気泳動することでペプチド鎖長に応じてタンパク質を分離できる

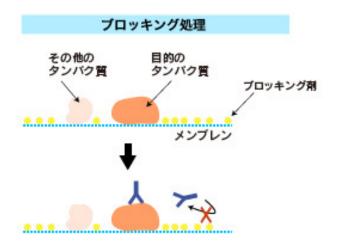
陰極(一)側



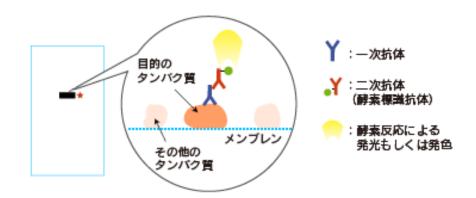
陽極(+)側

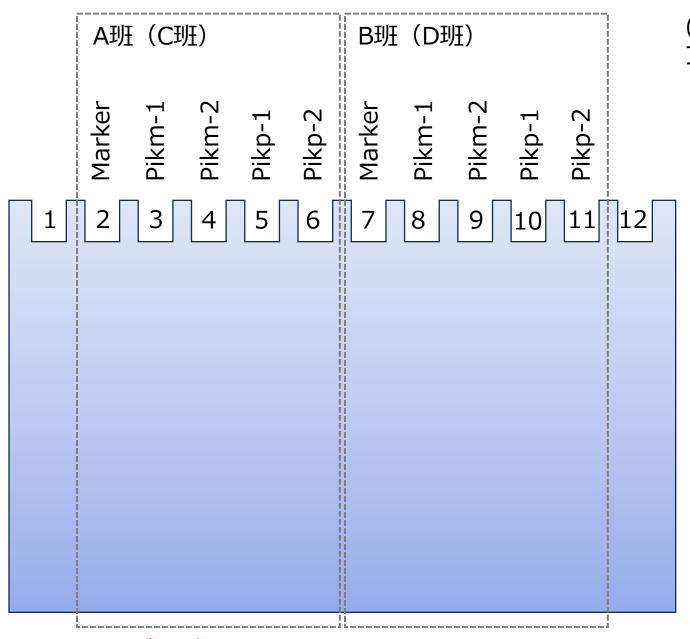
ウエスタンブロット解析





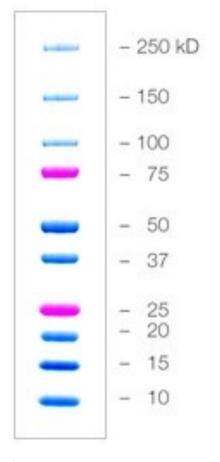
抗体反応、酵素反応で目的タンパク質を検出





(BIO-RAD社) プレシジョン Plus プロテイン 2 色スタンダード





*それぞれのタンパク質の質量(kDa)を計算 >栽培植物起原学のHPへ!

*2セットずつ(抗Myc抗体用、抗HA抗体用)