コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO CO., LTD.

一般研究用キット

セミドライブロッティング用
タンパク質転写キット

(Protein Transfer Kit For Semidry Electroblot, 品番：WB01)

2024 年 7 月 1 日改訂

※本品は、研究目的にのみご使用下さい。

《Ⅰ. 製品概要》

電気泳動後のポリアクリルアミドゲルからタンパク質を PVDF 膜やニトロセルロース膜に転写するウェスタンブロッティングは、ライフサイエンス研究において一般的に使用されています。

本キットは、セミドライブロットに必要な転写バッファー（x10）、弊社マルチゲル®Ⅱミニとの組み合わせに最適なサイズの PVDF 膜、ろ紙を含むキットです。

《Ⅱ-1. キット構成》

内容	容量	入数	保存温度
Blotting Buffer (x10)	100 mL	2 本	室温
PVDF 膜	25 枚	1 セット	室温
ろ紙	100 枚	1 セット	室温

※PVDF 膜のサイズは 90×80 mm
※ろ紙のサイズは 90×90 mm
※メタノール、精製水を別途にご用意願います。

《Ⅱ-2. キットの特徴》

・タンパク質の転写に必要なバッファー、PVDF 膜、ろ紙がパッケージングしています。

《Ⅲ. 試薬調製》

1. Blotting Buffer (x1)
   Blotting Buffer (x10)100mL、精製水 700mL、メタノール 200mL の割合で調製して下さい。
   調製後の x1 バッファーは常温保管が可能です。
2. PVDF 膜およびろ紙
   ゲル 1 枚で使用する場合はそのまま、少量の時は適切な大きさに切って使用して下さい。
3. ウェッティング処理（PVDF 膜）
   PVDF 膜は、使用前に両面をメタノールに 3～5 秒浸して全体を浸漬させます。その後、精製水で 10 分程度振とうしながら平衡化してから使用して下さい

《Ⅳ. 操作手順》

1. 常法に従い SDS-PAGE を行います。
2. ゲルプレートからガラス板を外し、スペーサーに沿ってゲルの両端に切り込みを入れます。
3. ゲルを Blotting Buffer (x1)20 mL を入れた容器中に入れ、10 分間振とうしながら、ゲルを平衡化します。
4. ブロッターに Blotting Buffer (x1)に浸したろ紙 2 枚を陽極面上に空気が入らないように置きます。
5. Blotting Buffer (x1)に浸したろ紙 2 枚の上に、ウェッティング処理した転写膜を空気が入らないように乗せます。
6. 平衡化したポリアクリルアミドゲルを転写膜上に乗せます。ゲルと転写膜の間に気泡が入らないように注意して下さい。
7. 重ね合わせたポリアクリルアミドゲルの上に Blotting Buffer (x1)で浸したろ紙 2 枚を空気が入らないように乗せます。
8. ブロッターの蓋を閉め、陽極及び陰極のプラグを差し込み、通電を開始します。転写膜 1cm^2 あたり 0.8 mA 定電流で 30～60 分間通電します。（ターゲットタンパクによって条件を検討して下さい）
9. 通電が終了したら電源を切ってプラグを抜き、ブロッターの蓋を開け、転写膜を取り出します。
10. 必要に応じて、CBB 染色またはアミドブラック 10B 染色を行い、タンパク質が転写されていることを確認します。
11. 転写膜はウェスタンブロット等の目的に合わせてご使用下さい。