

セミドライブロット用 タンパク質転写キット

(Protein Transfer Kit For Semidry Electroblot, Code No. WB01)

2025 年 7 月 24 作成

※本品は、研究目的にのみご使用下さい。

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トリングは、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。

《I-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。

《I-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、ろ紙をパッケージングしています。

《II. 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. ウェットリング処理 (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

《Ⅲ. 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、スぺ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、ウェット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 1cm² 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。