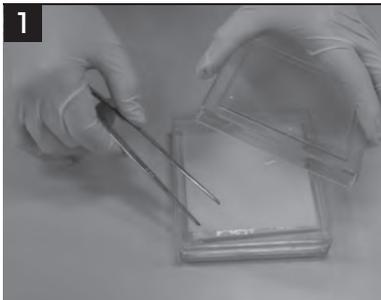
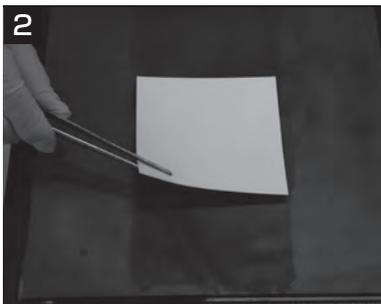


# 3. 操作手順

[1枚のゲルの転写例を紹介します。]



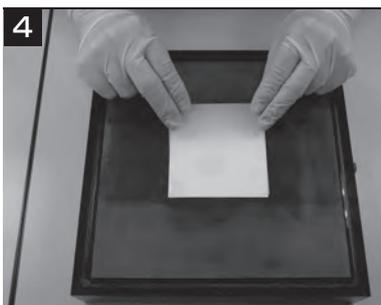
ゲルプレートからガラス板を外し、スペーサーに沿ってゲルの両端に切り込みを入れます。  
陰極液20 mlを入れた容器中で10分間振とうしながら、ゲルを平衡化します。



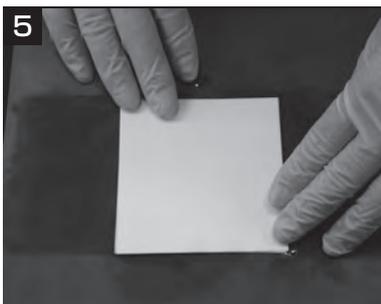
ブロッターの蓋をあけ、陽極液に浸したろ紙2枚を陽極面上に空気が入らないように置きます。



陽極液に浸したろ紙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。

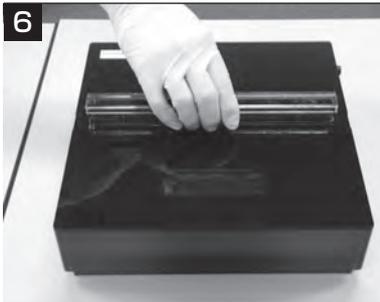


陰極液で平衡化したポリアクリルアミドゲルを転写膜上に乗せます。  
この時、ゲルと転写膜の間に気泡が入らないように注意してください。



重ね合わせたポリアクリルアミドゲルの上に陰極液で浸したろ紙2枚を空気が入らないように乗せます。これで転写単位\*が完成しました。

\*転写単位：陽極側ろ紙2枚・転写膜1枚・ポリアクリルアミドゲル1枚・陰極側ろ紙2枚を重ね合わせたもの



6

最後にブロッターの蓋を閉めます。



7

陽極及び陰極のプラグを差し込み、通電を開始します。15V定電圧で30分間、または100mA定電流で45分間通電します。2単位以上を転写する場合はp36を参照してください。

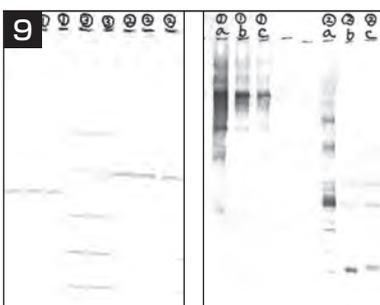
(注1) 15 V定電圧の場合、初期電流値は150mA以上となります。ご使用になる安定電源の出力性能を予めご確認ください。

(注2) タンパク質の等電点、転写膜の種類、転写単位を重ねた場合などにより、上記条件に合わないことがあります。予め、転写条件を検討されることをお勧めします。



8

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、各転写単位から転写膜を取り出します。



9

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てください。

左図は抗体染色像です。

このような酵素発色の他に、高感度な化学発光による検出もできます。

### ～ ワンポイントアドバイス ～

ウェスタブロットングにおいて転写効率を良くするためには、転写膜やろ紙をゲルより少し小さめにして、ろ紙に含ませるバッファー量も少し少なめにして、ゲル以外のところからの電流のリークを防止してください。

1

5. ウェスタブロットング

## 複数のゲルを転写する場合

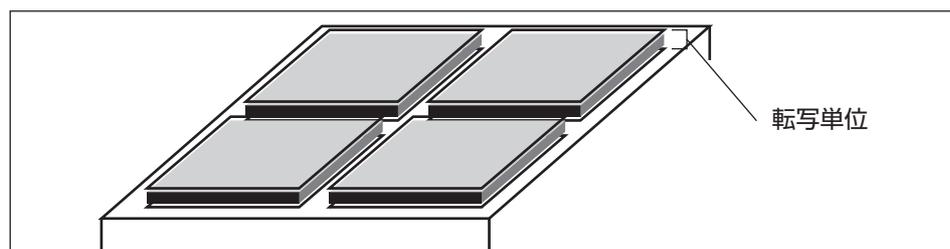
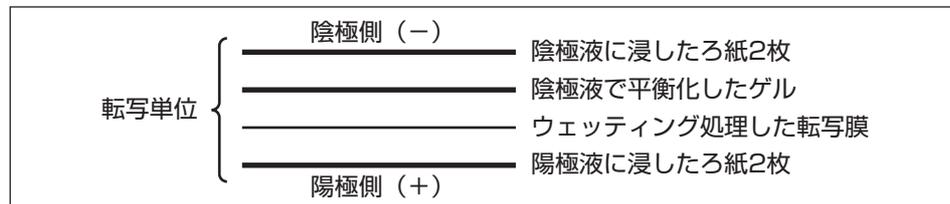
### ●ゲル4枚までの場合

陽極液を含んだろ紙2枚を重ねたものを1組として、陽極面上に並べます（最高4組まで並べることができます）。

余分な陽極液はなるべく除き、気泡が入らないように注意してください。

その上到下図を参考にしてウェット処理した転写膜1枚、陰極液で平衡化したゲル1枚、陰極液に浸したろ紙2枚を重ねて転写単位を作製します。この時も気泡が入らないように注意してください。

また、転写膜にゲルのウェルの位置をマーキングしておくとう便利です。



1台のセミドライエレクトロプロッターで転写する転写単位がセミドライエレクトロプロッター上で並列に複数単位となる場合は下表を参考に安定電源をお選びください。

転写単位数(組)	1	2	3	4
設定電圧値(V)	15			
初期電流値(mA)	~150	~300	~450	~600

同様に100 mA定電流の場合は以下の通りです。

転写単位数(組)	1	2	3	4
設定電流値(mA)	100	200	300	400
初期電圧値(V)	~10			