

EzRunT 取扱説明書

2019年06月28日 第11版

1. 本製品を安全にご利用いただく為の注意事項

本製品を安全にお使いいただくために、まず本取扱説明書をよくお読みください。本取扱説明書の内容を十分に理解されるまで、操作はお控えください。また本取扱説明書は、本製品を指定の目的に使用する方法のみ記載しております。本取扱説明書で指定していない目的・方法へのご使用はお控えください。万が一、本取扱説明書で指定しない目的、方法にご使用の場合、必要な安全対策及び不測の事態は全て操作する方の責任となります。

2. 使用目的

本製品はポリアクリルアミドゲルを用いたトリシン-不連続バッファ-系で電気泳動する際に使用する泳動用バッファ-です。

3. 本製品の構成

| 名称 | 容量 |
|---------------------|-----|
| EzRunT イーシーランティー | 1 袋 |

4. 組成

| 名称 | 主成分 |
|---------------------|------------------|
| EzRunT イーシーランティー | Tris、Tricine、SDS |

本製品はPRTR法の除外規定量を超える通知対象物が含まれております。SDSがお手元ない方はアト-ホームページ (<http://www.atto.co.jp>) より本製品のSDSをダウンロードしてご確認ください。

5. 保存方法

- 粉末状態のEzRunTは直射日光を避け、室温で保存してください。未開封の状態で使用期限内(製造日より1年間)は安定です。
- EzRunTを溶かして作成したストック溶液は、直射日光を避け、室温で密栓して保存してください。この状態で6ヶ月は安定です。
11/20 → 5月まで使用
- EzRunTを溶かした溶液は、低温条件においてSDSが析出することがあります。使用する場合はぬるま湯等で温め、析出したSDSを完全に溶解してください。
- 一度泳動に使用したバッファ-の再利用はできません。

6. 本製品以外に必要なもの

- マグネチックスターラー
- スターラーバー
- ビーカー
- メスシリンダー
- メジウム瓶などの容器
- 蒸留水

7. 廃棄方法

- 各試薬の廃棄は、ご所属機関の廃棄方法に準拠してください。
- チャック付ラミネート袋材質
ポリエステル/アルミ/ポリエチレン

8. 使用方法

- ① EzRunTを開封し、全量をビーカーに入れ、蒸留水400 mLで溶解します。
- ② 蒸留水を約20 mL EzRunTの袋に加え、残った粉末を溶解し、ビーカーに戻します。
- ③ 粉末が完全に溶解したことを確認し、メスシリンダーを用いて500 mLにメスアップします。
- ④ 10x ストック溶液となります。フタのできる容器に保存します。
- ⑤ 10x ストック溶液を蒸留水で10倍に希釈し、1x ワーキング溶液として電気泳動に用います。たとえば100 mL の10x ストック溶液に900 mLの蒸留水を加えて混合します。

9. 補足事項

- 電気泳動については、ご使用の泳動装置の取扱説明書に従ってください。
- 本製品の組成はSchaggerらの方法に基づいておりますが、濃度は異なります。

10. 関連商品

低分子ペプチド分離用のSchaggerらの方法に基づいた既製ゲルです。泳動バッファ-にはEzRunTを使用します。

| 型番 | 名称 |
|----------|---------------|
| P-T16.5S | 14検体 p-PAGEL |
| P-R16.5S | 18検体 p-PAGEL |
| CP16.5S | 15検体 cp-PAGEL |



アト-株式会社

主要製品

- 発光・蛍光イメージングシステム
- 画像解析ソフトウェア
- 電気泳動装置・関連試薬
- ウエスタンブロット試薬
- ペリスタポン
- 細胞培養・観察システム

■ URL <http://www.atto.co.jp/>

生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器
開発/生産/販売/サービス

- 東京本社 〒111-0041 東京都台東区元浅草3-2-2 Tel(03)5827-4861 Fax(03)5827-6647
- 大阪支店 〒530-0044 大阪府北区東天満2-8-1 Tel(06)6136-1421 Fax(06)6356-3625
若杉センタービル別館5階
- 技術開発センター 〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6 Tel(03)5818-7560 Fax(03)5818-7563
- メンテナンスセンター 〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6 Tel(03)5818-7567 Fax(03)5818-7563

p-PAGEL 取扱説明書

2020年09月08日 第4版

1. 本製品を安全にご利用いただく為の注意事項

本製品を安全にお使いいただくために、まず本取扱説明書をよくお読みください。本取扱説明書の内容を十分に理解されるまで、操作はお控えください。また本取扱説明書は、本製品を指定の目的に使用する方法のみ記載しております。本取扱説明書に記載されていない目的・方法での使用はお控えください。万が一、本取扱説明書に記載されていない目的、方法でご利用の場合、必要な安全対策及び不測の事態は全て操作なさる方の責任となります。また、同時に使用する装置の取扱説明書も熟読しご理解ください。

2. 使用目的

「p・パジェル」は低タンパク質やペプチドの電気泳動を行うための既製ポリアクリルアミドゲル（Tricine 系）です。トリシン系の泳動バッファとアトー製ミニゲルサイズ専用の電気泳動装置（既製ゲル仕様）が必要です。

3. 本製品の構成

| 名称 | サイズ | 個数 |
|-------------------|---|-------|
| p-PAGEL p・パジェル | ゲルサイズ 90(W)×83(H)×1mm(t) | 10枚/箱 |
| | ガラスプレートサイズ 120(W)×100(H)×2mm(t) (計5mm) | |

4. 組成

| 名称 | 主成分 |
|----------------|-------------|
| p-PAGEL p・パジェル | ポリアクリルアミドゲル |

本製品は毒物劇物取締法の毒物又は劇物、労働安全衛生法、PRTR法指定化学物質の除外規定量を超える通知対象物は含まれておりません。SDSはアトーホームページ（<http://www.atto.co.jp/>）よりダウンロード可能です。

5. 保存方法

- 冷蔵保存してください。凍結すると品質が損なわれます。
- 使用期限は外箱およびゲルの包装袋に表示されています。

6. 廃棄方法

- 試薬、プレートの廃棄は、ご所属機関の廃棄方法に従ってください。
- 材質 プレート：ガラス 包装：PET ナイロン

7. 本製品以外に必要なもの

- アトー製ミニゲルサイズ専用電気泳動装置
- パワーサプライ（175 V、160 mA 以上の出力推奨）
- Tris/Tricine/SDS 泳動用緩衝液 など

8. 使用上のご注意

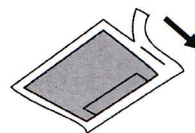
- 本製品は冷蔵保存（5～10℃）です。冷気の吹出口付近には絶対に置かないでください。凍結する恐れがあります。
- 凍結すると気泡、プレートの剥離、膨潤収縮等変形が生じ、使用できなくなります。
- 袋は使用直前に開封してください。開封後は品質が劣化しますので直ぐに使用してください。
- ゲルを素手で取り扱うと、ケガをする恐れがあります。取り扱い場合は手袋、保護衣を着用してください。

9. 使用方法

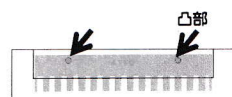
9-1. ゲルと泳動緩衝液の準備

1. 包装袋を開封し、ゲルを取り出します。
※切り難いときはハサミで切ってください。
※ゲルを無理やり引き出すとガラスがゲルから剥がれることがありますので避けてください。

2. コウムをゆっくり抜き取ります。
※コウムの表面に2箇所ある凸部に指を掛け、少しづつ左右をそろえてゆっくりコウムを外します。ウェルを曲げたり切ったりしないで外します。

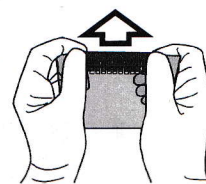


3. 泳動緩衝液 Ez Run T (Tris/Tricine/SDS) を準備します。
4. 泳動緩衝液でウェルを洗浄します。



9-2. 電気泳動

1. アトー製ミニゲルサイズ専用の電気泳動装置にゲルをセットし、泳動緩衝液を入れます。
※電気泳動装置に添付された取扱説明書にしたがって、ゲルをセットしてください。



2. 各ウェルにサンプルを適量アプライします。

※最大アプライ量はウェルの最大容量の約60%として表記しています。

| Code | 型式 | コウム (検体数) | ウェルサイズ | 最大アプライ量 |
|--------|----------|-----------|-----------------|---------|
| 232260 | P-T16.5S | 14検体 | 4.2(W)×10(H) mm | 24μL |
| 232265 | P-R16.5S | 18検体 | 2.9(W)×10(H) mm | 18μL |

3. 次表を参考に電源装置を設定します。

| | 電圧 | 電流 | 時間 |
|------|--------------------------------|------------------------------|----------|
| C.V. | 175 V 設定 | 開始時：70-90 mA 終了時：30-40 mA | 60-75 分 |
| | 150 V 設定 | 開始時：55-75 mA 終了時：25-35 mA | 90-110 分 |
| C.C. | 開始時：70-85 V 終了時：180-200 V | 40 mA/gel 設定 | 80-100 分 |
| | 開始時：150-165 V 終了時：230-250 V | 60 mA/gel 設定 | 55-70 分 |

※C.C.; Constant Current (定電流)、C.V.; Constant Voltage (定電圧) です。

※定電圧/定電流の場合の電流/電圧値は表を参考に余裕のある値を設定します。

※泳動後は緩衝液が高温になりますので、ご注意ください。

※時間および開始時と終了時の設定値以外の電流値や電圧値（実測値）は目安です。ゲル濃度などによって変わります。

※定電圧設定の場合はゲルの枚数に関係なく、175 V/150 Vに設定してください。

※定電流設定の場合はゲルの枚数×60 mA/40 mAを算出し、電流値を倍増して設定してください。

※PageRun Aceをお使いの場合には、ゲル1枚の泳動は『Std GEL2』（42 mA c.c.）で約90分、ゲル2枚の泳動は『HiGEL2』（24 w.c.w.）で約60分に設定してください。ゲル1枚で『HiGEL1』に設定した場合、約40分で泳動は終了しますが、バッファが高温になるためパターンに影響が出る場合があります。

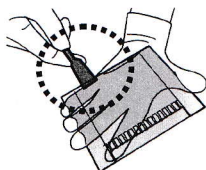
4. 通電して電気泳動します。

9-3. 電気泳動終了

1. ダイフフロント (CBB) がゲルの下端から5~10mm位のところまで泳動されたら、電源をオフにして泳動を終了します。

※電気泳動装置に添付された取扱説明書にしたがって、泳動操作を終了してください。

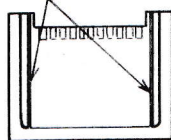
2. ゲルプレートを泳動槽から外し、スパチュラなど扁平なものをガラスの間に差し込み、上下に静かに動かしてゲルプレートを開きます。上面のガラス1枚を取り去ります。



3. スパチュラまたはメスでゲルとスペーサー側面の間に切込みを入れます。

※スパチュラを湿らせるとなめらかに動き、ゲルの破損を防ぐことができます。

4. 染色液もしくは固定液を入れたバットにゲルを移します。ゲル面を下向きにしてゲルプレートを持ち、ゲルとゲルプレートの間にスパチュラを差し込んで、ゲルを剥がします。



5. バットを軽くゆすってゲル全体を染色液に沈めます。

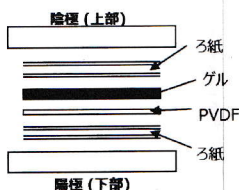
※CBB染色、銀染色、リバー染色、蛍光染色等を利用できます。

※低分子量タンパク質を感度よく検出するためには、*EzStainAqua*による染色をお勧めします。その際、低分子量タンパク質の溶出を防ぐために電子レンジ法を用いてください。また自作のCBB染色液の場合は、50%メタノール/10%酢酸固定液に20-30分間浸せきした後、CBB染色してください。



9-4. ウェスタンブロッティング

1. PVDF膜をメタノールで親水化処理し、ブロッティングバッファーで平衡化します。ろ紙もブロッティングバッファーに浸漬します。
2. 電気泳動後のゲルをブロッティングバッファーで洗浄します。
3. 右図を参考にろ紙とゲルとPVDF膜を重ねてブロッティング装置にセットします。
4. ローラーで余分な溶液と空気を抜きます。
5. 下表を参照して、通電して転写します。



| | ろ紙 | 電圧 | 電流 | 時間 |
|-------------|------|------|-------------|----------------------------------|
| 標準 | c.c. | 40 V | 0.144 A/gel | EzBlot, EzFastBlot, HMW: 30~60 分 |
| | c.v. | 12 V | 0.5 A/gel | |
| 高速 | c.c. | 40 V | 0.45 A/gel | EzFastBlot: 10~15 分 |
| | c.v. | 20V | 0.5 A/gel | HMW: 15~30 分 |
| QBlot kit M | c.v. | 12V | 0.1~0.4A | 15~30分 |
| | | 24V | 0.5~0.8A | 5~10分 |

※低分子量タンパク質の転写にはポアサイズの小さいPVDF膜 (クリアブロット P・プラス膜 0.2μm) をご使用ください。

※ブロッティングバッファーに5~20%のメタノールを添加すると、転写時に低分子がPVDF膜から脱落しにくくなります。

※転写後にPVDF膜を風乾すると、低分子量タンパク質の膜からの脱落が軽減される場合があります。風乾したPVDF膜はろ紙などに挟み、ジッパー付きの袋などに密閉して-20℃に保存してください。使用する際は100%メタノールに数秒浸漬して親水化処理し、TBS-Tで洗浄後、ブロッティング処理から抗体反応を開始してください。また転写後のPVDF膜を溶液内に長時間放置すると、低分子量タンパク質が脱落する場合がありますのでご注意ください。

10. 参考

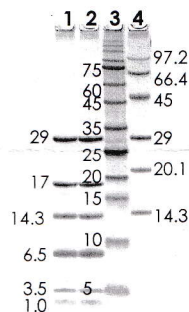
低分子電気泳動用試料の調整方法

Shagger法に準拠した方法を簡単に紹介します。下記サンプルバッファーにサンプルを溶解し、37℃で15分から60分加熱処理をします。

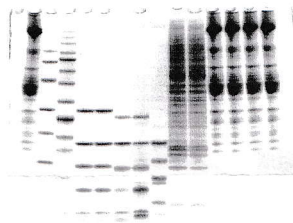
4×SDS sample buffer : 12% SDS (w/v), 6% mercaptoethanol (v/v), 30% glycerol (w/v), 0.05% Coomassie blue G-250, 150 mM Tris/HCl (pH 7.0)

電気泳動パターン

アト分子重量マーカー



レーン1,2: *EzStandard LMW*
レーン3: *EzProtein Ladder*
レーン4: *EzStandard*



レーン1,11-14: ニワトリ筋抽出液
レーン2: *EzStandard*
レーン3: *EzProtein Ladder*
レーン4,5: *EzStandard LMW*
レーン6-8: 他社ペプチドマーカー
レーン9,10: HeLa抽出液

泳動緩衝液: *EzRun T*

泳動条件: 175V定電圧、約60分

ゲル染色: 50mLの*EzStain AQUA*に浸漬し、電子レンジ(600W 45秒)をかけ、約2時間振とうしながら染色した。その後、水に置換して再び電子レンジ(600W 30秒)にかけて脱色した。

※アトホームページより様々な実験のコツおよびTechnical informationがダウンロードできますので、ご覧ください。

<http://www.atto.co.jp/>



実験のコツ



Technical information



低分子電気泳動資料



アト株式会社

主要製品

- 発光・蛍光イメージングシステム
- 画像解析ソフトウェア ●電気泳動装置・関連試薬
- ウェスタンブロット試薬 ●ペリスタポン
- 細胞培養・観察システム

■URL <http://www.atto.co.jp/>

生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器
開発/生産/販売/サービス

- 東京本社 〒111-0041 東京都台東区元浅草3-2-2 Tel(03)5827-4861 Fax(03)5827-6647
- 大阪支店 〒530-0044 大阪市北区東天満2-8-1 Tel(06)6136-1421 Fax(06)6356-3625
- 若杉センタービル別館5階
- 技術開発センター 〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6 Tel(03)5818-7560 Fax(03)5818-7563
- メンテナンスセンター 〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6 Tel(03)5818-7567 Fax(03)5818-7563