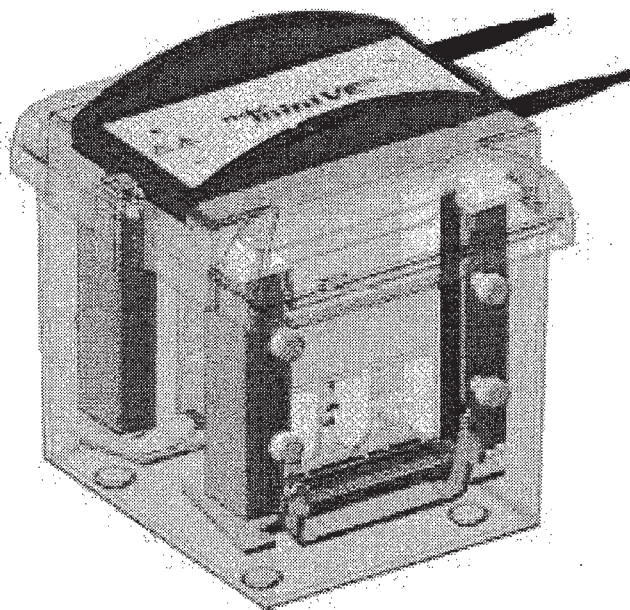


Hoefer® 一体型電気泳動装置

miniVE

簡易取り扱い説明書



このマニュアルは、一体型電気泳動装置 miniVE のものです。

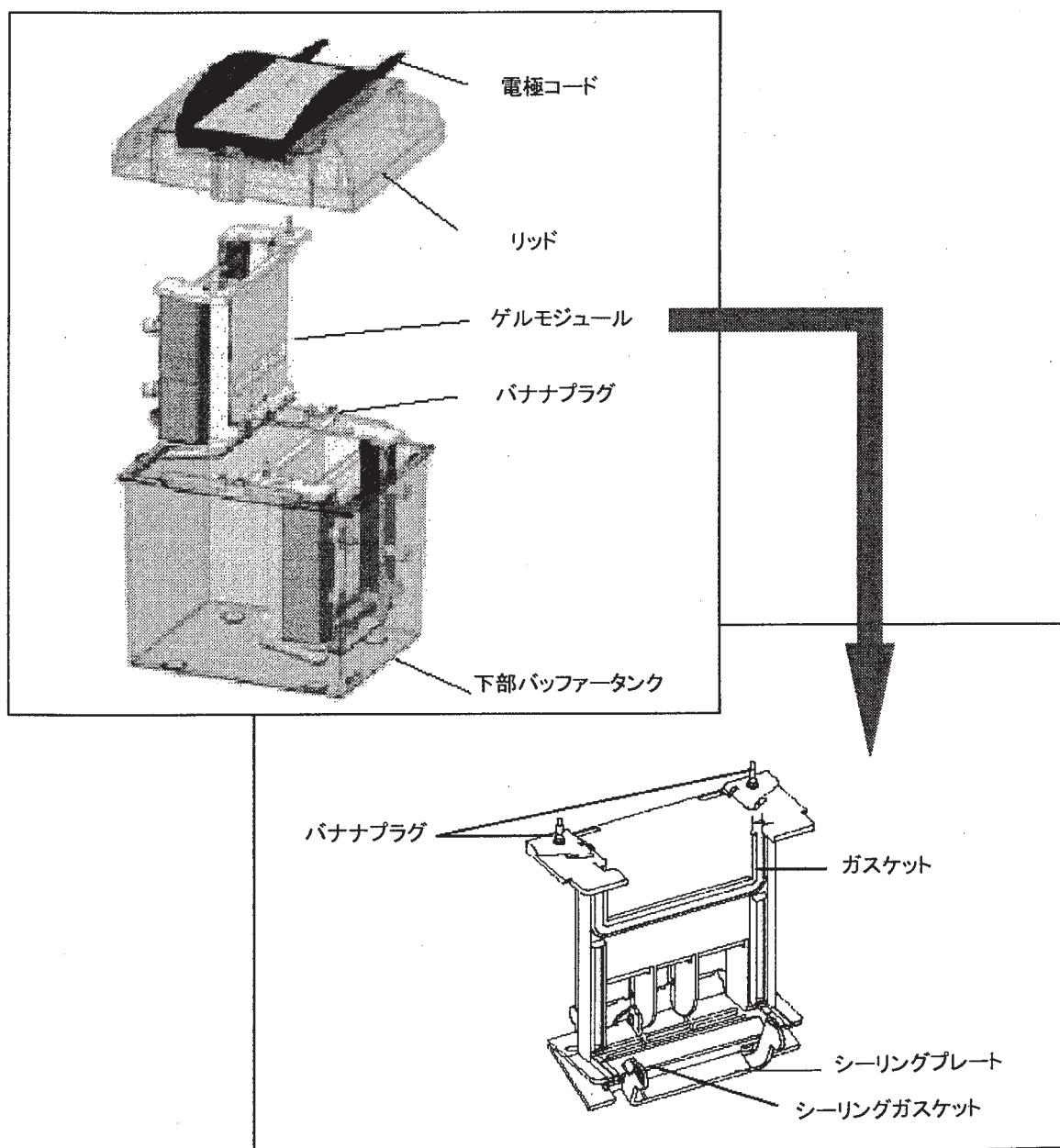
詳細な取り扱いに関しましては英文マニュアルをご参照ください(本文中、読みやすいように英文マニュアルと異なる名称を使用している箇所があります)。

A. 開梱

梱包を解きましたら全てのパーツが揃っていることをパッキングリストにそってご確認ください。

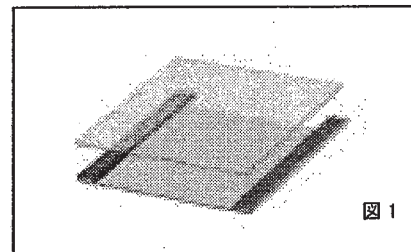
B. 各部名称

各パーツの名称は以下の通りです。

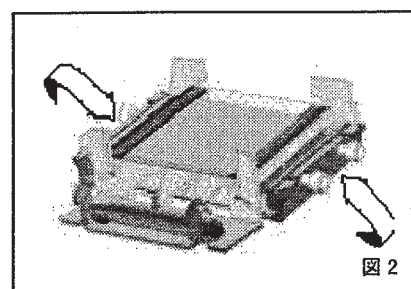


C. ゲルモジュールの取り扱い

ノッチ付きガラスプレートもしくはアルミナプレートの上にスペーサー、ガラスプレートを重ねます(図 1)。以下、このセットをゲルサンドウィッチと呼びます。ゲルサンドウィッチは作成したいゲルの枚数分準備します。



1) ゲルサンドウィッチの底辺を揃えた後、ゲルモジュールに設置します。このようにゲルサンドウィッチをクランプで挟み込み、スクリューを均等にしっかりと締めます(図 2)。この時にスペーサーとガラスプレート、もしくはアルミナプレートの底辺・両端がそろっていることをご確認ください。

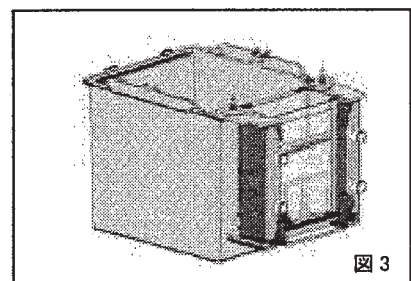


2) シーリングプレートを起こし、つまみをクランプの奥の窪みにしっかりととはめ込みます。シーリングプレートのカセットがゲルサンドウィッチの底辺に密着していることをご確認ください。

3) 水平な台の上に立てて、もしくは図 3 のように下部バッファータンクに設置してゲル溶液を流し込みます。

※ゲルサンドウィッチの底辺がカセットに密着していない、もしくはスペーサー・ガラス板の表面にゴミが付着している場合などにはゲル溶液が漏れることがあります。ゲル溶液の漏れを防ぐことができない場合は、GelSeal™をゲルサンドウィッチ底部コーナーに薄く塗布してください。

※ゲル溶液の作成については「D.ゲル作成」をご覧ください。



D. ゲル作成

- 1) ゲル溶液を準備します。

ゲル枚数、ゲル厚さに応じ、作成するゲル溶液量を調節してください。

必要なゲル溶液量(2 枚分)

ゲル厚(mm)	分離ゲル(ml)	濃縮ゲル(ml)
0.75	15	3.35
1.0	20	4.47
1.50	30	6.70

※バッファー組成、ゲル溶液の作成については「J.各種溶液の調製」をご覧ください。

- 2) 10 %過硫酸アンモニウム、TEMED を加えた分離ゲル溶液をゲルモジュールにセットしたゲルサンドウィッチへ流し込みます。
- 3) n-ブタノール飽和水溶液を静かに重層し、1 時間以上重合させます。
- 4) n-ブタノール飽和水溶液を取り除き、濃縮ゲルバッファーで重合済みの分離ゲル表面を洗います。
- 5) 気泡が入らないように、静かにコームを差し込みます。
※コームの種類につきましては「L. パーツアクセサリ」をご覧ください。
- 6) 1 時間以上重合させます。

E. サンプル添加

- 1) ウェルを崩さないようにコームを外します。
- 2) 泳動バッファーでゲルを洗い、ゲルモジュールごと逆さにして、ウェル中のバッファーを除きます。
- 3) ウェルに泳動バッファーを満たします。
- 4) サンプルを添加します。

◎ウェル深 1 mm あたりのサンプル量(μl)

ウェル数	ゲル 厚		
	0.75 mm	1.0 mm	1.5 mm
5	9.5	12.7	19.1
9	—	5.8	—
10	3.6	4.8	7.2
15	2.2	2.9	4.4
18	—	2.9	—

F. 泳動槽の準備

miniVE には、大きさ 10×8～10.5 cm(W×L)・厚さ 0.75～1.5 mm の自作ゲル、もしくはプレキャストゲルがご使用になれます。

- 1) シーリングプレートをつまみを下段の窪みにはめ込み (図4)、ゲルの底面が下部バッファータンク内のバッファーに接するようにします。
- 2) 下部バッファータンクにゲルモジュールを設置します。
- 3) 上部バッファータンクに泳動バッファー(75～100 ml)を満たします。ノッチ付きプレートの上までバッファーを注ぎ入れます。

※泳動バッファーを事前に 4℃に冷却することで、スマイリングを防ぐことができます。

※泳動バッファーの組成については「J. 各種溶液の調製」をご覧ください。

- 4) 下部バッファータンクの「MIN」の表示より上、「MAX」の表示の下まで泳動バッファーで満たします。必要なバッファー量はゲル(ゲルモジュール)数により異なります。

※泳動バッファー量の目安

ゲルモジュール 1 個を使用する場合: 1.2～1.6 L

ゲルモジュール 2 個を使用する場合: 1.1～1.4 L

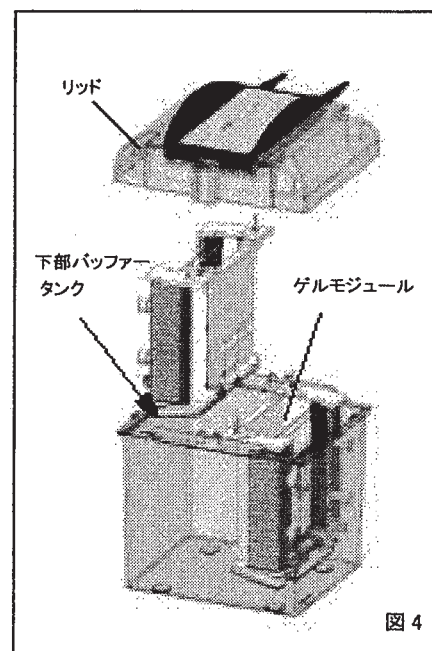


図 4

G. 泳動

1) リッドを被せ、電極コードをパワーサプライに接続します。

2) 定電流もしくは定電圧で泳動を始めます。

SDS-PAGE: 10~20 mA/ゲル

3) 色素がゲル下端に達する直前に泳動を終了します。

H. 泳動終了

1) 電源を切り、リッドをはずします。

2) ゲルモジュールを逆さにして、泳動バッファーを捨てます。

3) ゲルモジュールのシーリングプレート、クランプを外し、ゲルサンドウィッチを取り外します。

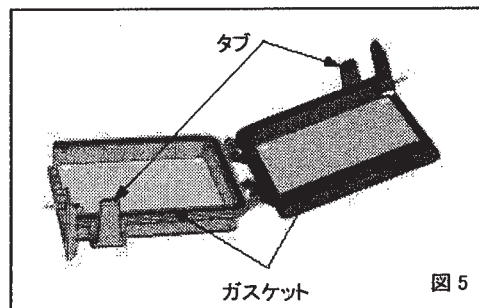
4) スペーサーを取り、プレートからゲルをはがし、染色もしくはブロットティングを行いません。

5) 各パーツは薄めた中性洗剤で洗浄後、水道水で洗剤を落とします。さらに蒸留水でリンスした後乾燥させ、保管します。

I. プロットモジュール（オプション）の取り扱い

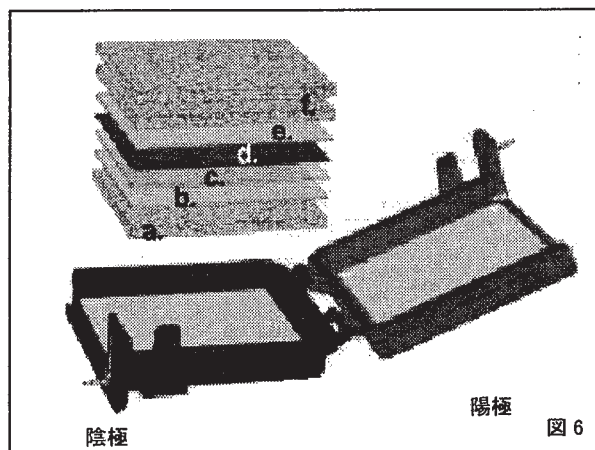
1) 陽極、陰極の電極板を蒸留水ですすいでおきます。

2) ゲルモジュールの陰極、陽極の縁にガスケットがはめ込まれていることを確認します。(図 5)



3) ゲルと同じサイズのプロットティングペーパーを 2 枚もしくは 4 枚準備します。カットしたプロットティングペーパーはトランスファーバッファーに浸しておきます。

4) メンブランを同じサイズにカットします。ニトロセルロースメンブラン、ナイロンメンブランは蒸留水につけた後、PVDF メンブランはメタノールにつけた後に 2~5 分間トランスファーバッファーに浸しておきます。図 5 のようにダクロンスポンジ(a, f)、プロットティングペーパー(b, e)、ゲル(c)、メンブラン(d)を重ねます。2 枚のゲルのプロットティングを同時に行なう場合は、f で示した 2 枚のダクロンスポンジの間に b~e を重ねます。この時にメンブランとゲルの間に気泡が入らないよう注意します。



5) 陰極の上に a~f をのせ、プロットモジュールを閉じ、タブを奥までしっかりとはめ込みます。

- 6) プロットモジュールを 300～350 ml のトランスファーバッファーで満たします。
- 7) プロットモジュールを下部バッファータンクに設置します。下部バッファータンクを 1.2～1.7 L の室温もしくは 4℃に冷却した蒸留水で満たします。
- 8) リッドを被せ、電極コードをパワーサプライに接続します
- 9) 定電流でプロットティングを行ないます。Towbin Buffer を使用する場合、300～400 mA で 1～2 時間の条件で行ないます。

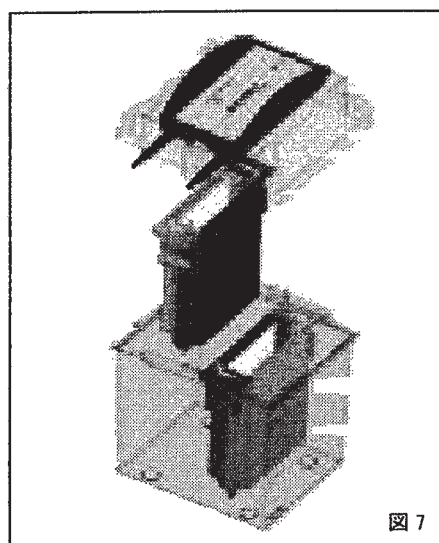


図 7

J. 各種溶液の調製

ーLeammli 不連続バッファーシステムー

ここで使用する試薬につきましては「K.試薬リスト」をご覧ください。

ゲル溶液

	分離ゲル	濃縮ゲル
モノマーストック溶液(溶液1)	X ml	X ml
4×分離ゲルバッファー(溶液2)	2.50 ml	—
4×濃縮ゲルバッファー(溶液3)	—	1.25 ml
10 % SDS(溶液4)	0.10 ml	0.05 ml
蒸留水(D.W.)	Y ml	Y ml
10 % APS(溶液5)	50 μ l	25 μ l
TEMED	5 μ l	2 μ l
総溶液量	10 ml	5 ml

X ml: アクリルアミド濃度に応じて調製してください。

Y ml: モノマーストック溶液(溶液1)の量に応じて調製してください。

※作成するゲル溶液量はゲルの枚数、ゲル厚に応じて調節してください。

※10 % APS、TEMED はゲルサンドウィッチに流し込む直前に加えてよく混ぜてください。

溶液1 モノマーストック溶液(30 % T、2.7 % C)

PlusOne アクリルアミド	60.0 g
PlusOne ビスアクリルアミド	1.6 g

D.W.で 200 ml に調製

※作成後、遮光・4℃で3ヶ月保存可能です。

溶液2 4×分離ゲルバッファー(1.5 M Tris-Cl、pH8.8)

PlusOne Tris	36.3 g
--------------	--------

150 ml の D.W.に溶解し、HCl で pH8.8 に調製後、D.W.で 200 ml に調製

溶液3 4×濃縮ゲルバッファー(0.5 M Tris-Cl、pH6.8)

PlusOne Tris	3.0 g
--------------	-------

400 ml の D.W.に溶解し、HCl で pH6.8 に調製後、D.W.で 50 ml に調製

溶液 4 10 % SDS

PlusOne SDS	5.0 g
-------------	-------

D.W.で 50 ml に調製

溶液 5 10 %過硫酸アンモニウム(APS)

PlusOne 過硫酸アンモニウム	0.1 g
-------------------	-------

D.W.で 1 ml に調製

※用事調製:D.W.を加えた時にパチパチという音がしない場合、新しい APS を使用してください。

溶液 6 n-ブタノール飽和水溶液

イソブチルアルコールと D.W.を 1:1 の比でよく攪拌します。上層、下層に分かれたところで下層の溶液を捨てます。上層の溶液をさらに攪拌して下層の溶液を捨てます。この操作を数回繰り返し、上層を使用します。

溶液 7 サンプル SDS 処理バッファー**1. 2×SDS 処理バッファー**

(0.125 M Tris-Cl pH6.8, 4 % SDS, 20 %グリセロール, 10 % 2-メルカプトエタノール)

4×濃縮ゲルバッファー(溶液 3)	2.5 ml
-------------------	--------

10 % SDS(溶液 4)	4.0 ml
----------------	--------

PlusOne グリセロール	2.0 ml
----------------	--------

PlusOne 2-メルカプトエタノール☆	0.2 ml
-----------------------	--------

PlusOne プロモフェノールブルー	0.2 mg
---------------------	--------

D.W.で 10 ml に調製

☆2-メルカプトエタノールの代わりに 0.31 g のジチオスレイトール(DTT)でも結構です。

※一般的に、サンプル溶液に等量以上の 2×SDS 処理バッファーを加えます。

よく混合し、95℃で 3～4 分ボイルして処理します。

※作成後、1 ml ずつに分注し、-40～80℃にて保存可能です。

2. 6×SDS 処理バッファー

(0.35 M Tris-Cl pH6.8, 10 % SDS, 30 %グリセロール, 9.3 % DTT)

4×濃縮ゲルバッファー	7.0 ml
PlusOne SDS	1.0 g
PlusOne グリセロール	3 ml
PlusOne DTT	0.93 g
PlusOne ブロモフェノールブルー	1.2 mg

D.W.で 10 ml に調製

※サンプル濃度が低い場合に用います。

サンプル溶液 5 容量に対し、6×SDS 処理バッファーを 1 容量加えてよく混合し、95℃で 3～4 分ボイルします。

※1 ml ずつ分注し、-70℃にて保存可能です。

溶液8 10×泳動バッファー(0.25 M Tris pH8.3, 1.92 M グリシン, 1.0 % SDS)

PlusOne Tris	30.28 g
PlusOne グリシン	144.11 g
PlusOne SDS	10.0 g

D.W.で 1.0 L に調製

※pH 調製は必要ありません。

溶液9 Towbin Buffer(25 mM Tris pH8.3, 192 mM グリシン)

PlusOne Tris	3.0 g
PlusOne グリシン	14.4 g
PlusOne SDS	1.0 g

D.W.で 1.0 L に調製

※pH 調製は必要ありません

※SDS はゲルからのタンパク質の溶出効率を上げたい場合に 0.1 % (w/v) 程度でバッファーに加えてください。

※メタノールはメンブランへのタンパク質結合効率を上げたい場合に有効です。10～20 % 程度加えてください。

—LMW Kit E(SDS-PAGE 用低分子量マーカー)の調製法—

LMW Kit E	
タンパク質	サブユニット分子量(Da)
ホスホリラーゼ b	94.000
アルブミン	67.000
オブアルブミン	43.000
カルボニックアンヒドラーゼ B	30.000
トリプシンインヒビター	20.100
α -ラクトアルブミン	14.400

1 バイアルに 1×SDS 処理バッファーを 1 ml 加えて溶解します。1.5 ml チューブにマーカー溶液を移し、95℃、3～4 分間ボイルします。

CBB 染色の場合、1 ウェルあたり 5～8 μ l 添加してください。

銀染色の場合、1×SDS 処理バッファー¹⁾または 1×濃縮ゲルバッファーでさらに 40 倍希釈したものを 1 ウェルあたり 5～8 μ l²⁾ 添加してください。

- 1) 還元剤(2-メルカプトエタノール、DTT)を除いたものでも結構です
- 2) 銀染色試薬により感度差がありますので添加量を調製してください。

※溶解、ボイル処理したマーカーは分注し、-20℃で 3 ヶ月間保存できます。

※添加量はゲル厚により調整してください。

—HMW Kit E(SDS-PAGE 用高分子量マーカー)の調製法—

HMW Kit E	
タンパク質	サブユニット分子量(Da)
ミオシン	212.000
α 2-マクログロブリン	170.000
β -ガラクトシダーゼ	116.000
トランスフェリン	76.000
グルタミン酸デヒドロゲナーゼ	53.000

1 バイアルに D.W. ¹⁾を 500 μ l 加えて溶解します。1.5 ml チューブにマーカー溶液を移してください。

CBB 染色の場合、1 ウェルあたり 5～8 μ l 添加してください。

銀染色の場合はさらに 40 倍希釈し、1 ウェルあたり 5～8 μ l²⁾ 添加してください。

- 1) SDS 処理バッファーは必要ありません。
- 2) 銀染色試薬により感度差がありますので添加量を調整してください。

※溶解したマーカーは分注し、-20℃で 3 ヶ月間保存できます。

※添加量はゲル厚により調整してください。

ーフルレンジレインボーマーカーー

Full Range Rainbow™マーカーー

バンドの色	分子量(kDa)
青	250
赤	160
緑	105
黄	75
紫	50
青	35
オレンジ	30
緑	25
青	15
赤	10

溶液状態で供給され、そのまま添加できます。

※CBB 染色の場合、1 ウェルあたり 10 μ l 添加してください。

※凍結融解の繰り返しを防ぐため、チューブなどに分注して-20℃で凍結保存します。

※分子量の推定に使用できます。

分子量測定にはスタンダード分子量マーカーー LMW kit E, HMW kit E をご使用ください。

ーレインボーマーカーー(高分子用、低分子用)ー

Rainbow マーカーー(高分子用、低分子用)

バンドの色	分子量(kDa)	高分子用 (RPN756)	低分子用 (RPN755)
青	220	●	
茶	97.4	●	
赤	66	●	
黄	46	●	●
オレンジ	30	●	●
青	21.5	●	●
赤紫	14.3	●	●
青黒	6.5		●
青	3.4		●

溶液状態で供給されます。サンプルバッファー¹⁾と 1:1 の割合で混合して使用します。

1) 2-メルカプトエタノールが終濃度 5 %となるよう加えてください。

※CBB 染色の場合、1 ウェルあたり 5 μ l 添加してください。

※凍結融解の繰り返しを防ぐため、チューブなどに分注して-20℃で凍結保存します。

※分子量の推定・測定にはご使用になれません。

— 染色 —

◎ CBB 染色

＜染色液＞(0.1 % CBB)

PhastGel® BlueR 1 錠に対し D.W. 80 ml を加えて約 10 分間強く攪拌します。メタノール 120 ml をさらに加えて 3 分間攪拌してろ過し、これをストック溶液とします。

使用前にストック溶液※1 容量に対し、20 %酢酸を 1 容量混合します。

※このストック溶液は 4℃下で 3 週間保存可能です。

＜脱色液＞(30 %メタノール、10 %酢酸)

メタノール	300 ml
-------	--------

酢酸	100 ml
----	--------

D.W.	600 ml
------	--------

よく混合します

◎ 銀染色

銀染色につきましては PlusOne® Protein 銀染色キット中の使用説明書をご覧ください。

K. 試薬リスト

製品名	包装	コード番号
PlusOne アクリルアミド PAGE	250 g	17-1302-01
	1000 g	17-1302-02
PlusOne アクリルアミド PAGE 溶液 40 %	1000 ml	17-1303-01
PlusOne NN'メチレンビスアクリルアミド	25 g	17-1304-01
	100 g	17-1304-02
PlusOne 過硫酸アンモニウム	25 g	17-1311-01
PlusOne TEMED	25 ml	17-1312-01
PlusOne SDS	100 g	17-1313-01
PlusOne Tris	500 g	17-1321-01
PlusOne グリシン	500 g	17-1323-01
PlusOne ジチオスレイトール(DTT)	1 g	17-1318-01
	5 g	17-1318-02
PlusOne 2-メルカプトエタノール	25 ml	17-1317-01
PlusOne グリセロール(87 %)	1 L	17-1325-01
PlusOne プロモフェノールブルー	10 g	17-1329-01

— 分子量マーカー —

Full Range Rainbow Marker	500 µl	RPN800
Range Rainbow Marker(高分子レンジ)	250 µl	RPN756
Range Rainbow Marker(低分子レンジ)	250 µl	RPN755
ECL タンパク質分子量マーカー	25 µl/25 回分	RPN2107
LMW Kit E(SDS-PAGE 用)	10 バイアル	17-0446-01
HMW Kit E(SDS-PAGE 用)	10 バイアル	17-0615-01
HMW Kit E(SDS-PAGE/Native-PAGE 用)	10 バイアル	17-0445-01

— プロッティングメンブラン —

製品名	サイズ	包装	コード番号
Hybond-P	20×20 cm	10 枚	RPN2020F
	30 cm×3 m	1 ロール	RPN303F
Hybond-ECL	6×8 cm	50 枚	RPN68D
	20×20 cm	10 枚	RPN2020D
	30 cm×3 m	1 ロール	RPN303D
Hybond-C pure	20×20 cm	10 枚	RPN2020W
	20 cm×3 m	1 ロール	RPN203W
	30 cm×3 m	1 ロール	RPN303W
Hybond-C extra	20×20 cm	10 枚	RPN2020E
	30×50 cm	5 枚	RPN3050E
	20 cm×3 m	1 ロール	RPN203E
	30 cm×3 m	1 ロール	RPN303E

L. パーツ、アクセサリ一覧

製品名	包装	コード番号
miniVE Basic	1 ユニット	80-6418-58
miniVE Complete	1 ユニット	80-6418-77
プロットモジュール	1 ユニット	80-6418-96
Novex プレキャストゲル用アダプター	1 セット	80-6421-24
クランプスクリュー	12 個	80-6173-48
プロッターペーパー(9×10.5 cm)	50 枚	80-6205-40
ニトロセルロースメンブラン(0.45 μm, 9×10.5 cm)	10 枚	80-6221-17
ワンダーウェッジ	1 個	80-6127-88
スペーサーメイト	3 枚	80-6143-84
ウェルロケーティングプレート	2 枚	80-6142-13

— ガラスプレート、アルミナプレート —

ガラスプレート(10×8 cm)	10 枚	80-6136-81
ガラスプレート(10×10.5 cm)	5 枚	80-6150-87
アルミナプレート(ノッチ付き)(10×8 cm)	1 枚	80-6136-24
アルミナプレート(ノッチ付き)(10×8 cm)	10 枚	80-6136-43
アルミナプレート(ノッチ付き)(10×10.5 cm)	5 枚	80-6150-68
ノッチドガラスプレート(10×10.5 cm)	5 枚	80-6150-49

— スペーサー —

0.75 mm 厚スペーサー(8 cm)	2 枚	80-6137-95
1.0 mm 厚スペーサー(8 cm)	2 枚	80-6138-14
1.5 mm 厚スペーサー(8 cm)	2 枚	80-6138-33
0.75 mm 厚スペーサー(10.5 cm)	2 枚	80-6149-92
1.0 mm 厚スペーサー(10.5 cm)	2 枚	80-6150-11
1.5 mm 厚スペーサー(10.5 cm)	2 枚	80-6150-30

— コーム —

ウェル数	ウェル幅	コーム厚	ウェル深 1 mm あたり	
			のサンプル量	コード番号
5	13.0 mm	0.75 mm	9.5 μ l	80-6140-23
5	13.0 mm	1.00 mm	12.7 μ l	80-6140-42
5	13.0 mm	1.50 mm	19.1 μ l	80-6140-61
10	4.8 mm	0.75 mm	3.6 μ l	80-6138-71
10	4.8 mm	1.00 mm	4.8 μ l	80-6138-90
10	4.8 mm	1.50 mm	7.2 μ l	80-6139-09
15	2.9 mm	0.75 mm	2.2 μ l	80-6139-47
15	2.9 mm	1.00 mm	2.9 μ l	80-6139-66
15	2.9 mm	1.50 mm	4.4 μ l	80-6139-85
1 prep/1 ref	6.85/5.2 mm	0.75 mm	50/3.5 μ l	80-6141-56
1 prep/1 ref	6.85/5.2 mm	1.00 mm	65/5 μ l	80-6139-75
1 prep/1 ref	6.85/5.2 mm	1.50 mm	100/7.5 μ l	80-6141-94
9	5.8 mm	1.00 mm	5.8 μ l	80-6140-80*
18	2.9 mm	1.00 mm	2.9 μ l	80-6140-04*

※マイクロタイター用

総合お問合せ窓口

TEL : 03-5331-9336

(営業日の 9:00 ~ 12:00、13:00 ~ 17:30)

機器アフターサービス (音声案内にしたがい①を選択)

FAX : 03-5331-9349 (常時受付)

製品技術情報に関して (音声案内にしたがい②を選択)

e-mail : Tech-JP@cytiva.com (常時受付)

納期／在庫に関して (音声案内にしたがい③を選択)

注) お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

www.cytivalifesciences.co.jp

論文に掲載いただく際の名称・所在地

Cytiva

Tokyo, Japan

掲載されている内容および価格は2021年5月現在のものです。価格は希望小売価格(消費税は含まれておりません)であり、単なる参考価格のため、弊社販売代理店が自主的に設定する販売価格を何ら拘束するものではありません。掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

Cytiva(サイティバ)

グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社
〒169-0073

東京都新宿区百人町3-25-1 サンケンビルヂング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL : 03-5331-9336

e-mail : Tech-JP@cytiva.com



www.cytivalifesciences.co.jp