

電気泳動の進化系

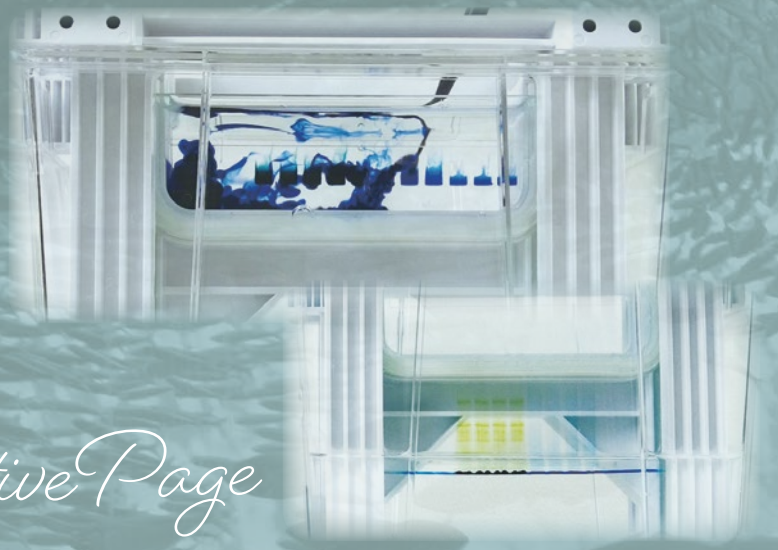
高分子解析に適した電気泳動システム

High Molecules Electrophoresis

電気泳動解析の可能性ひろがる
HMW & Native PAGE シリーズ

Blue
Native Page

Clear
Native Page



u-PAGEL H

高分子用プレキャストゲル

EzProteoLysis Native

Native PAGE 用タンパク質抽出用キット

EzApply Native

Native PAGE 用サンプル調製バッファー

EzStandard Native

Native PAGE 用分子量スタンダード

EzRun ClearNative

HR-CN-PAGE 用泳動バッファー

EzRun BlueNative

BN-PAGE 用泳動バッファー

高分子タンパク質の電気泳動に最適な究極のプレキャストゲル

u-PAGEL H

u・パジェル H

まず分離に適したゲルを選びましょう



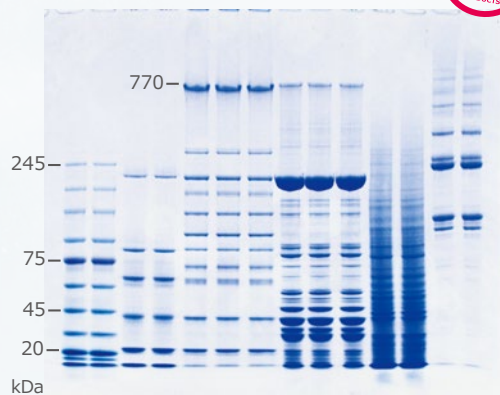
20 ~ 1,500kDa まで対応

U-PAGEL H (3-14%)



ポリアクリルアミドゲルは、アクリルアミドと架橋剤である N,N'-メチレンビスアクリルアミド (Bis) がラジカル重合により結合した重合体です。アクリルアミドだけでは直鎖状につながっていただけですが、架橋剤を加えることにより、架橋の役割を果たして網目 (三次元) 構造を持った重合体 (ゲル) ができます。従来の架橋剤 (Bis) は、水への溶解度が低いため Bis 同士が集まる部分ができ、不均一なゲルとなります。不均一なゲルは機械的強度が下がるため、もろく破れやすいために取り扱いが難しいことが課題でした。

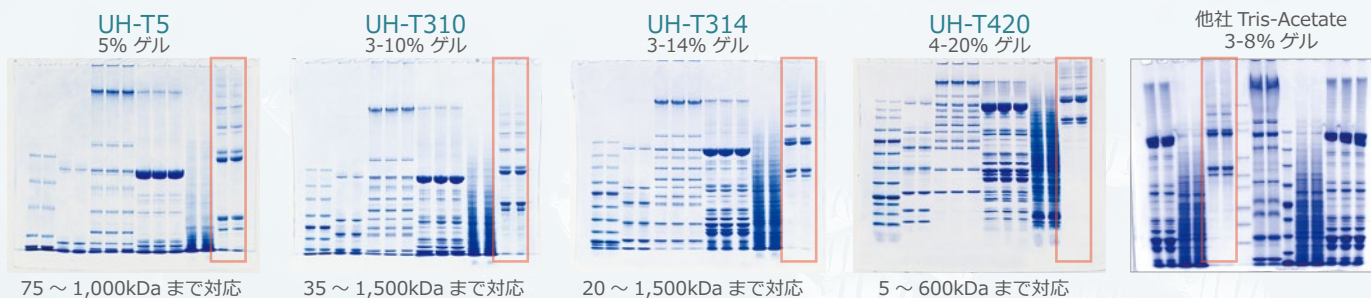
u-PAGEL H は、Bis よりも親水性が高く、結合の手が長い新規架橋剤を用いています (右図)。そのため、低濃度であっても均一なゲルになり、機械的強度に優れ、破れにくいゲルになりました。またポアサイズが大きくなることで、泳動試料がゲルの網目に目詰まりすることなくスムーズに入り、さらに高い分離能を示します。



SDS PAGE

u-PAGEL H で高分子バンドがこんなにシャープに!

SDS PAGE



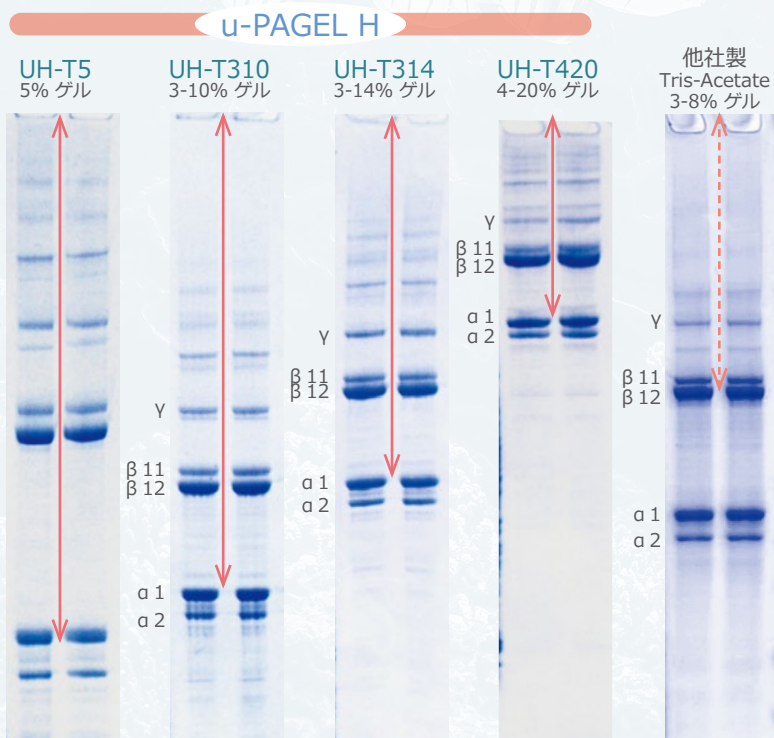
SDS PAGE

Collagen (コラーゲン) の泳動

右図は、各種 u-PAGEL H と他社のゲルにより SDS-PAGE により泳動した結果を示しています。上図のゲル内のオレンジ枠で囲まれた Collagen (コラーゲン) のレーンを拡大しています。

u-PAGEL H は、他社ゲルに比べて、バンドがスメアにならず、高分子のバンドもシャープに分離されることが確認できます。特に $\beta 11$ と $\beta 12$ がシャープに分離されており、 γ のバンドも明瞭に確認できるうえ、さらに高分子領域のバンドもはっきりと視認できます。

さらに u-PAGEL H は、他社ゲルの約半分の時間で高速泳動が終了するうえに、低分子から高分子に至るまで、バンドがシャープに分離できることがわかります。

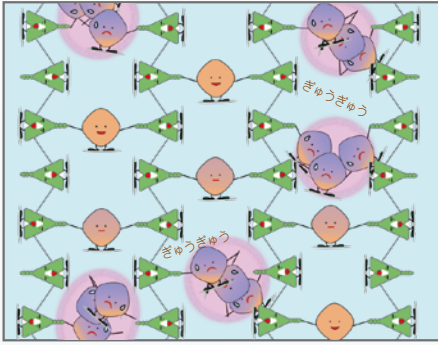


ゲル	泳動条件	時間
u-PAGEL H	300V c.v.	30~45分
他社ゲル 3-8% Tris-Acetate gel	150V c.v.	61分

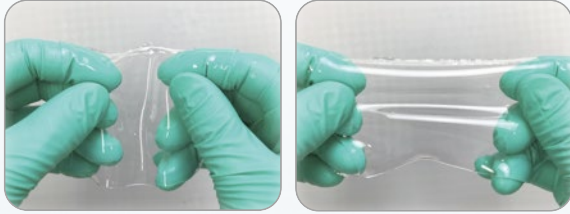
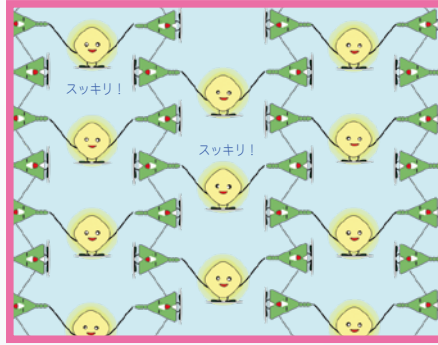
(1x EzRun)

高い分離能と物理的強度を兼ね備えた究極のポリアクリルアミドゲル

従来の架橋剤 (Bis) を用いたゲルの架橋イメージ



新規架橋剤を用いたゲルの架橋イメージ



こんなに引っ張ってもやぶれない!



新規架橋剤を用いたゲルは、Bisを用いたゲルに比べて、引張破断ひずみが約 1.7 倍高く、やぶれにくいことが特長です。染脱色操作やプロットニング操作において、ゲルが格段に取り扱いやすくなりました。

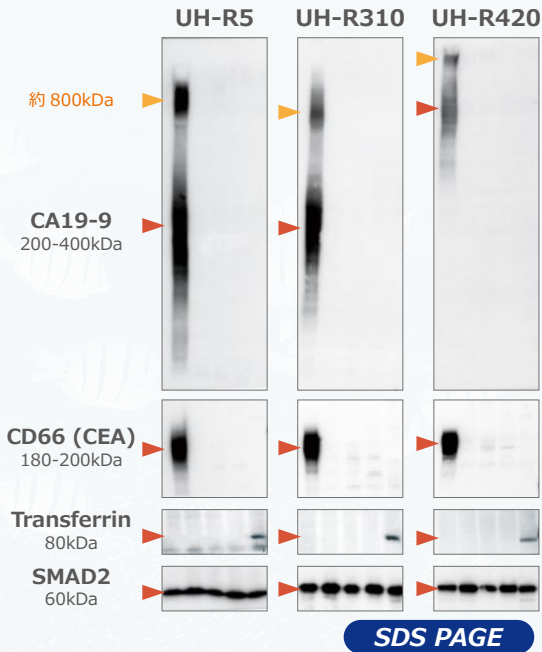
u-PAGEL H で高分子を効率的に検出しよう!



セミドライ式で 1 MDa が転写できる!*

大腸がん細胞由来の細胞抽出液を u-PAGEL で分離し、ウェスタンブロットニングで CA19-9、CD66、Transferrin、SMAD2 の発現を検出した結果を示しています。CA19-9 と CD66 は Colo205 細胞のみで、Transferrin は HepG2 細胞で検出されました。このように u-PAGEL H は 500kDa 以上の高分子タンパク質を良好に分離し、ウェスタンブロットニングで高効率に転写して良好にバンドを検出できます。

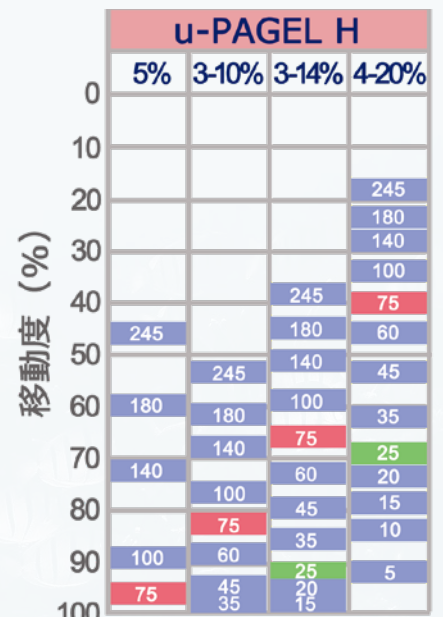
サンプル： 分子量マーカー
左から Colo205, HCT116, SW620, HeLa, HepG2 細胞抽出液
泳動条件： 300V、35 分 (1x EzRun)
転写条件： EzFastBlot HMW、24V、30 分
ブロッキング： EzBlock CAS 30 分
1 次抗体： CA19-9、CD66、Transferrin、SMAD2
2 次抗体： HRP 標識抗 IgG 抗体
検出： EzWestLumiOne
撮影： LuminoGraph III



SDS PAGE

高分子量用ゲル

u-PAGEL H (u・パジェル H)



* EzProtein Ladder のバンド移動度です

SDS PAGE

Products

新登場!

	u-PAGEL H (5%) u-パジェル H(5%)		u-PAGEL H (3-10%) u-パジェル H(3-10%)		u-PAGEL H (3-14%) u-パジェル H(3-14%)		u-PAGEL H (4-20%) u-パジェル H(4-20%)	
ゲル濃度	5% 均一		3-10% グラディエント		3-14% グラディエント		4-20% グラディエント	
製品名	UH-T5	UH-R5	UH-T310	UH-R310	UH-T314	UH-R314	UH-T420	UH-R420
コード No.	2331300	2331310	2331302	2331312	2331306	2331316	2331304	2331314
検体数	14	18	14	18	14	18	14	18
分画範囲	75 ~ 1,000 kDa		35 ~ 1,500 kDa		35 ~ 1,500 kDa		5 ~ 600 kDa	
アプライ量			14 検体 最大 24uL		18 検体 最大 18uL			
ゲルサイズ	90mm (W) x 83mm (H) x 1.0mm (D)							
価格 (税別)	25,800 円 10 枚							

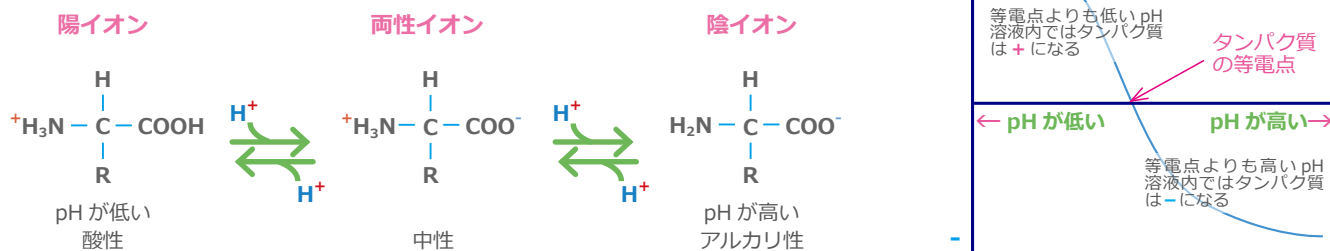
本誌記載の価格(税抜き)および製品仕様は予告なく変更する場合がありますので、ご了承ください。最新の情報などにつきましては当社ホームページでご確認ください。

Native PAGE

高分子といえばやっぱりネイティブです 

Native PAGE はドデシル硫酸ナトリウム (SDS) や還元剤 (DTT など) を使用せずに、タンパク質をポリアクリルアミドゲルで電気泳動により分離する手法です。SDS イオン由来の負電荷を帯びず、タンパク質固有の電荷と分子量に依存して分離されます。タンパク質の変性が抑えられるため、タンパク質間の高次構造や生理活性などが保持されやすく、タンパク質の相互作用やコンプレックス、酵素活性などの解析に用いられます。Native PAGE には従来の Native PAGE 法のほかに、タンパク質の高次構造を壊さずに、負電荷を帯びた色素であるクーマジープリリアントブルー (CBB) を利用した Blue-Native PAGE (BN-PAGE) や、弱い陰イオン性界面活性剤を利用した High-Resolution-Clear Native PAGE (HR-CN-PAGE) があります。

Principle

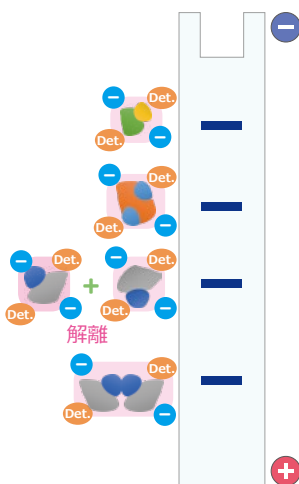


タンパク質を構成するアミノ酸は両性イオンであり、pH が低い溶液内（酸性）では陽イオンに、pH が高い溶液内（アルカリ性）では陰イオンとして挙動します（左図）。一方、タンパク質は等電点よりも pH が低い溶液内ではプラス (+) に、等電点よりも pH が高い溶液内ではマイナス (-) に帯電します。プラス (+) になるかマイナス (-) になるかは、アミノ酸は解離定数 (pK) に、タンパク質は等電点に依存します。そのため Native PAGE では、等電点が大きいタンパク質は泳動されにくくなり、泳動途中で止まったり、逆行するため良好に分離することが困難な場合があります。さらに変性されていないタンパク質は複雑な高次構造をとるため、Native PAGE では立体構造の影響により分子量がそのまま分子サイズを反映しないことがあります。また等電点の影響も受けるため、相対移動度が分子量を反映しない現象がしばしば起きます。

Principle

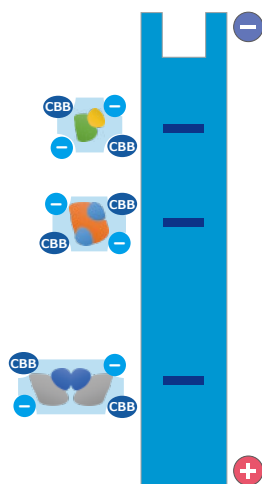
それぞれの泳動方法の原理に関して、模式図を使用して簡単に説明します。

HR-CN-PAGE



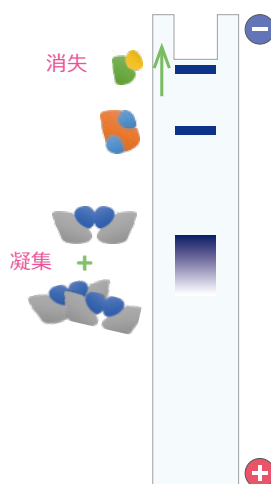
タンパク質コンプレックスの周りが陰性界面活性剤で覆われて泳動されるため、分子量に応じて分離されます。弱く結合したコンプレックスは解離する場合があります。酵素活性やタンパク質の機能は保持されます。

BN-PAGE



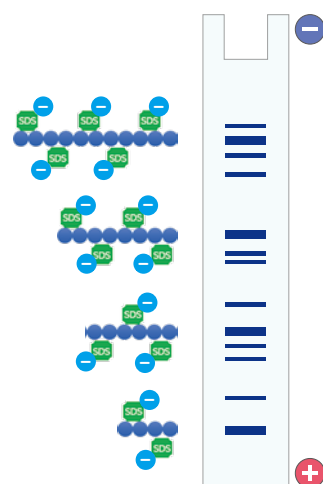
タンパク質コンプレックスの周りが負に帯電した CBB により覆われて泳動されます。コンプレックスが解離しない CBB 濃度なので、安定した形状で分子量に応じて分離されます。CBB の結合により酵素活性やタンパク質の機能は損なわれることがあります。

Native PAGE



タンパク質をそのまま泳動するため、タンパク質の等電点が分子量よりも影響が大きくなります。ゲルの pH よりも等電点が大きいタンパク質は、陰極側に移動して消失することがあります。またタンパク質コンプレックスは壊れませんが、凝集が生じることがあります。

SDS PAGE



タンパク質コンプレックスは、SDS と還元剤の処理により解離して 1 本鎖のポリペプチドに変性します。SDS が均等に付加されて負の電荷を帯びるため、各ポリペプチドは分子量の大きさに従って分離されます。酵素活性などは損なわれることが多くなります。

Native PAGE Reagents

SDS を含まない Tris-Glycine 系ゲルに使用可能です



Clear Native Page



UH-T310
150V cv, 95min

HR-CN

HR-CN-PAGE 中の様子

WSE-7056 EzRun ClearNative



- ✓ High-Resolution-Clear-Native PAGE (HR-CN-PAGE) 用泳動バッファー
- ✓ 5 ×濃度の陰極用と陽極用の泳動バッファーのセット
- ✓ 蒸留水で 5 倍希釈するだけ
- ✓ 酵素活性やタンパク質の活性を阻害しない
- ✓ SDS を含まない Tris-Glycine 系ゲルに使用可能

→ P.9

Blue Native Page



UH-T310
150V cv, 85min

BN

BN-PAGE 中の様子

WSE-7057 EzRun BlueNative



- ✓ Blue-Native PAGE (BN-PAGE) 用泳動バッファー
- ✓ 10x 濃度の泳動バッファーと 100x 濃度の陰極バッファー用添加溶液のセット
- ✓ 陰極 / 陽極用泳動バッファーは蒸留水で 10 倍希釈するだけ
- ✓ サンプルアプライ後、陰極バッファーに添加溶液を加えて泳動開始
- ✓ タンパク質のコンプレックスやオリゴマーの解離を生じない
- ✓ SDS を含まない Tris-Glycine 系ゲルに使用可能

→ P.11

Native Page



UH-T310
150V cv, 90min

Native

WSE-7055 EzRun TG

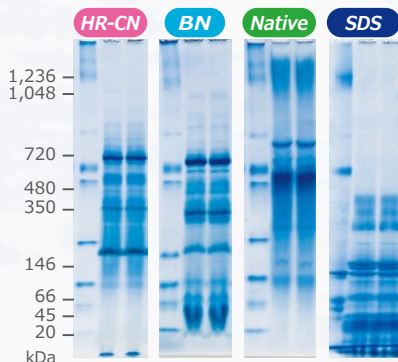
- ✓ Native PAGE 用泳動バッファー
- ✓ 10 ×濃度の泳動バッファー
- ✓ 蒸留水で 10 倍希釈するだけ

サンプル調製 EzProteoLysis Native → P.7
EzApply Native → P.8

分子量マーカー EzStandard Native → P.8

Native PAGE で解析しよう

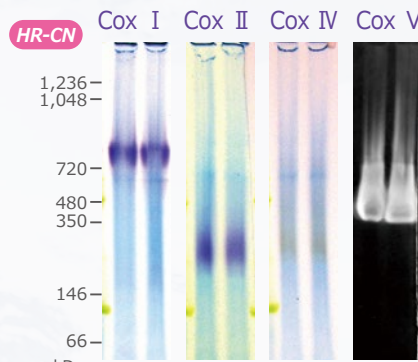
コンプレックス解析



UH-T314 ゲル (3~14%)

様々な Native PAGE 法および SDS-PAGE で葉緑体抽出液を泳動分離したゲルを EzStain AQua で染色し、Printgraph Classic でカラー撮影したイメージです。同じサンプルでも泳動法により泳動パターンが異なり、コンプレックスの解離等の解析に利用できます。

酵素活性染色による検出



UH-T310 ゲル (3~10%)

EzProteoLysis Native で抽出したニワトリ肝ミトコンドリアタンパク質を HR-CN-PAGE で泳動分離し、NADH デヒドロゲナーゼ (I)、コハク酸デヒドロゲナーゼ (II)、チトクロム C オキシダーゼ (IV)、ATP 合成酵素 (V) をゲル内での酵素活性染色により検出した結果を示しています。Printgraph Classic でカラー撮影したイメージです。

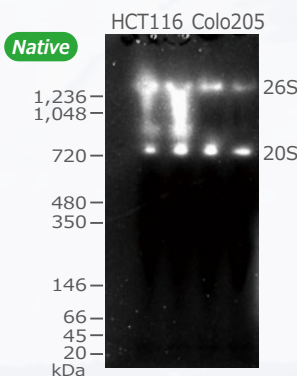
カラー撮影に最適な

Printgraph Classic

「WSE-5400 Printgraph Classic」はカラー CMOS カメラを搭載、高速起動~撮影~プリントのスタイルを持ちながら、画質にもこだわったゲル撮影装置です。



プロテアソーム活性の検出



UH-T314 ゲル (3~14%)

EzProteoLysis Native で抽出した大腸がん細胞 HCT116 および Colo205 抽出タンパク質を Native PAGE で泳動分離し、Suc-LLVY-AMC を使用してキモトリプシン様プロテアソーム活性を In Gel Proteasome Activity assay で検出した結果を示しています。UV で励起し、BPF530 フィルターと UV カットフィルターを使用して LuminoGraph II EM で 5 秒露光により撮影したイメージです。

Feature

泳動バッファー/ゲル

泳動中の着色

透明

バンドの分離能

バンドのシャープさなど

BN-PAGE よりもバンドの分離能が高いといわれています。泳動バッファーに含まれる陰イオン性界面活性剤のミセルがタンパク質に結合することで、溶解度が上がり、コンプレックス全体が負に帯電し、等電点に関係なく分子量に従った泳動分離ができます。

酵素活性の検出

In-gel catalytic activity assay

タンパク質の変性が最小限に抑えられているため、酵素活性が保持されます。In-gel catalytic activity assay に適しており、OXPHOS、ATP 合成酵素、NADPH、HRP、その他さまざまな活性測定に利用されています。

蛍光タンパク質の検出

In-gel fluorescence assay

タンパク質の変性が最小限に抑えられているため、蛍光反応が阻害されず、透明なため蛍光の吸収も生じません。In-gel fluorescence assay に適しており、Cy-Dye 標識タンパク質、GFP、YFP などの解析に利用されています。

コンプレックスの構造

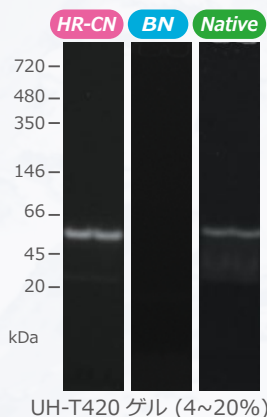
解離による影響など

陰イオン性界面活性剤が少量とはいえ含まれるため、泳動中に、不安定な結合のサブユニットが解離することがあります。そのためコンプレックスを完全な大ききで分離できないことがあります。

アトーの関連製品

EzProteoLysis Native, EzApply Native, EzStandard Native, EzRun ClearNative

蛍光タンパク質の検出



酵母細胞で発現したEGFP結合タンパク質をEzBactYeast Crusherにより抽出し、様々なNative PAGE法で分離しました。ゲル内のEGFPの蛍光を、Blue LEDで励起し、BPF525フィルターを使用してLuminoGraph II EMを使用し10秒露光により撮影した結果を示しています。BN-PAGEで分離した場合、ゲルが青く染色されるため、EGFPの蛍光が吸収され、EGFPの蛍光は検出できません。

蛍光や発光撮影に最適な

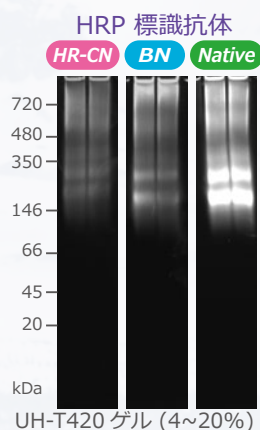
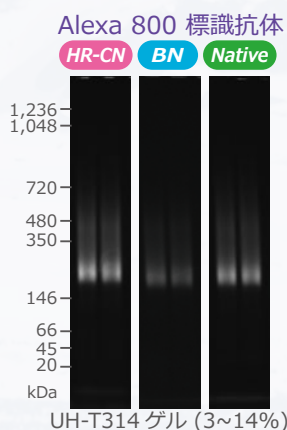
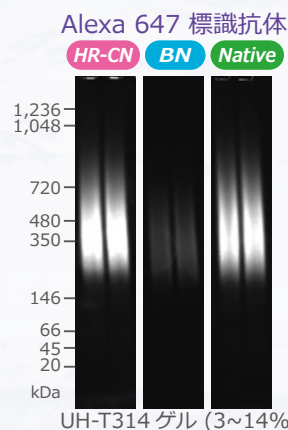
LuminoGraph II EM



アトーが持つ撮影装置開発の技術、ノウハウを全て集約。

超高感度EM-CCDカメラ、歪みの少ない「F0.8」高感度レンズを搭載、最適な光源とフィルターの組み合わせにより、微弱な発光や蛍光の検出に最適なハイエンドモデルケミルミ撮影装置です。

抗体の標識蛍光色素および標識酵素の検出



市販の蛍光色素および酵素標識抗体を様々なNative PAGE法で泳動分離し、LuminoGraph II EMで検出した結果を示しています。Alexa 647はRed LEDで励起してBPF690フィルターで10秒露光、Alexa 800は近赤外光で励起してLPF810フィルターで30秒露光により撮影したイメージです。またHRPは発光基質であるEzWestLumiOneと反応させて、ゲル内の発光をLuminoGraph II EMで5秒露光により撮影したイメージです。

BN-PAGE

CBB由来の濃青色



負に帯電したCBBが大量にタンパク質に結合することで、溶解度が上がり、コンプレックス全体が負に帯電し、等電点に関係なく泳動分離ができます。CBBが結合した疎水性タンパク質は凝集を生じず、界面活性剤による解離も生じないため安定です。逆にCBBが結合しない塩基性の水溶性タンパク質は分離できません。



CBBの結合により酵素活性が阻害されることがあり、ゲルやタンパク質の着色によっても酵素活性の検出が妨げられることがあります。



CBBがタンパク質に結合するため蛍光検出が阻害されることがあります。ゲルやタンパク質が濃青色に着色されるため、吸収により蛍光検出が妨げられます。90-95%クエンチングされるといわれています。



泳動中にコンプレックスの解離が生じないため、少量で簡単にコンプレックスが分離できます。クロマトグラフィーとの相関性が90%以上と高く、OXPHOS、ATP合成酵素、GPCR、膜タンパク質、その他コンプレックスに利用されています。

EzProteoLysis Native, EzApply Native, EzStandard Native, EzRun BlueNative

Native PAGE

透明



タンパク質の電荷および等電点に強く依存します。負に帯電したタンパク質(pIがゲル内の環境より低い、酸性タンパク質)は陽極側に移動し、正に帯電したタンパク質(pIがゲル内の環境より高い、塩基性タンパク質)は陰極側に移動し、消失する場合があります。泳動途中で析出することもあり、スミアなパターンになります。



タンパク質の変性が生じないため酵素活性が保持されています。In-gel catalytic activity assayに適しております。ただし泳動中に析出や逆走することがあり、バンドとして分離できないことがあります。



タンパク質の変性が最小限に抑えられているため、蛍光反応が阻害されず、透明なため蛍光の吸収も生じません。ただし泳動中に析出や逆走することがあり、バンドとして分離できないことがあります。



泳動中にコンプレックスの解離が生じないが、泳動中に析出や逆走することがあり、バンドとして分離できないことがあります。

EzProteoLysis Native, EzApply Native, EzStandard Native, EzRun TG

WSE-7424

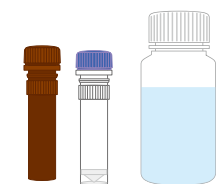
イージープロテオリシス ネイティブ

EzProteoLysis Native

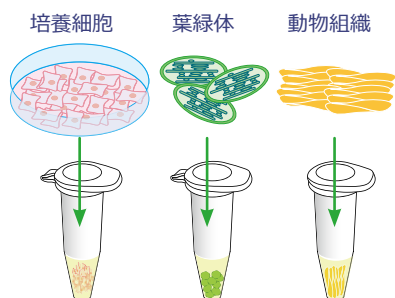
動植物細胞や組織に添加するだけで、活性を損なうことなく簡単にタンパク質が抽出できます。Protease inhibitor と Phosphatase inhibitor が付属しています。



Protocol

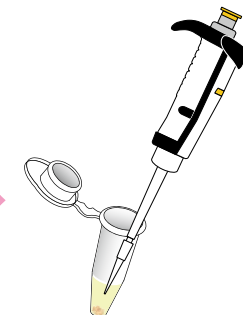
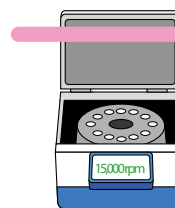


EzProteoLysis Native に Protease inhibitor と Phosphatase inhibitor を添加して混合します



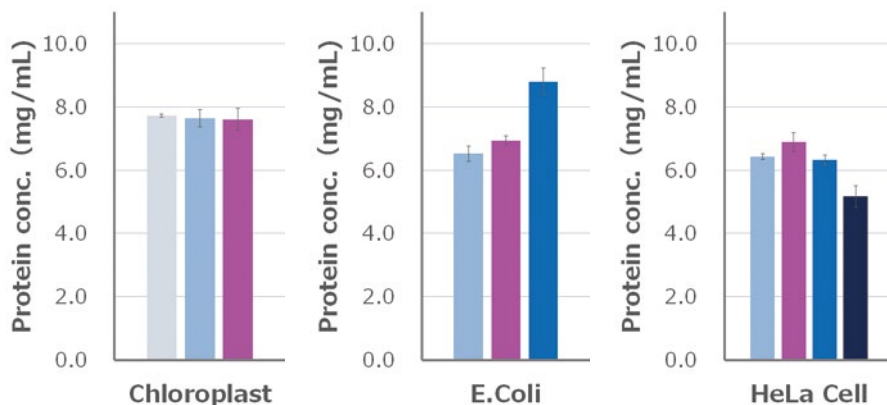
EzProteoLysis Native を添加してピペティングし氷上で 5 ~ 10 分間静置します
※動物組織はホモジェナイズします

14,000 × g で 5 ~ 10 分間遠心します



遠心上清を回収します

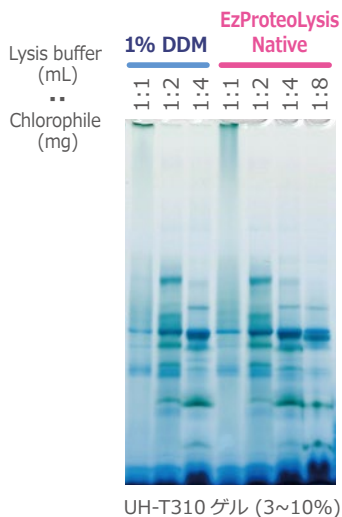
Data



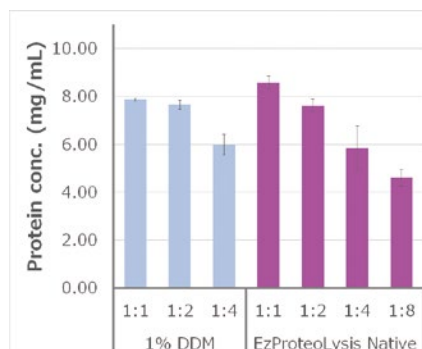
葉緑体 (Chloroplast) は 0.5 mg、大腸菌 (E.Coli) は 10 mL の培養液、HeLa 細胞はコンフルエントの 10 cm ディッシュ 1 枚から 1 mL の溶出液を使用して抽出した結果を示しています。

- 2% Digitonin
 - 1% DDM
 - EzProteoLysis Native
 - EzBactYeast Crusher
 - RIPA Lysis buffer
- ※ DDM: n-dodecyl-β-D-maltoside

Data



葉緑体 1mg に 1% DDM 溶出液あるいは EzProteoLysis Native を 1、2、4、8 mL 添加してタンパク質を抽出しました。それぞれの抽出液に EzApply Native を 1/10 量添加し、u-PAGEL H (3~10%) を使用して Blue Native PAGE により泳動分離しました。電気泳動バッファには EzRun BlueNative を使用しています。EzProteoLysis Native は 1% DDM と同等の抽出効率および泳動パターンを示しています。



Product

EzProteoLysis Native イージープロテオリシス ネイティブ	
型式	WSE-7424
コード	2332319
キット内容	① EzProteoLysis Native 30 mL ② Protease inhibitor (100x) 0.3 mL ③ Phosphatase inhibitor (100x) 0.3 mL
保存	① 4℃ / ②③ -20℃ (製造より 1 年保存可能)
価格 (税別)	20,800 円



WSE-7016

イージースタンダード ネイティブ

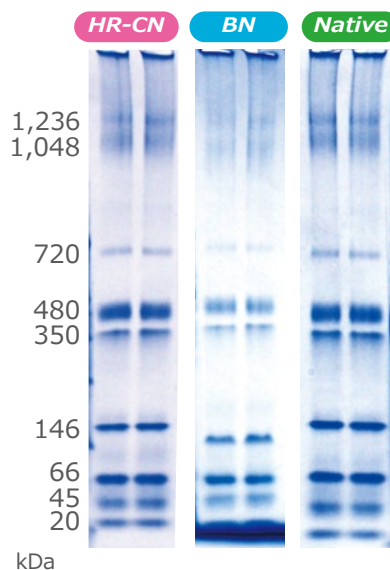
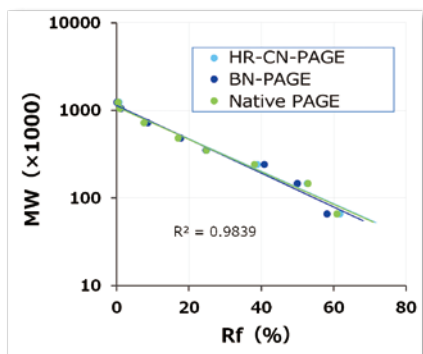
EzStandard Native



- ▶ Native PAGE 用分子量スタンダード
- ▶ 20 ~ 1,236kDa の 9 本のバンド
- ▶ Ready to Use
- ▶ 5μL/ レーンで約 100 回分

Data

20 ~ 1,236kDa の広範囲の分子量域をカバーする Native PAGE 用の分子量スタンダードです。



HR-CN: High-Resolution-Clear-Native-PAGE
BN: Blue-Native PAGE
Native: Native PAGE

UH-T314 ゲル (3~14%)

kDa

従来の Native PAGE 法、Blue-Native 法、界面活性剤を使用する HR-CN-PAGE 法に対応します。泳動パターン、移動度に相関性があり、再現性の良いデータを採取できます。

分子量範囲が広いので、様々な濃度のゲルで使用可能な Native PAGE 用の分子量スタンダードです。

EzStandard Native の相対移動度模式図

移動度 (%)	u-PAGEL H				e-PAGEL HR/e-PAGEL					
	5%	3-10%	3-14%	4-20%	7.5%	10%	12.5%	15%	5-20%	10-20%
0	1236			1048	1048	720	720	720	1048	720
10	1048			720	720	480	480	480	720	480
20		1236	1048	480	480	350	350	350	480	350
30		1048		350	350		146	146	350	146
40	720						66	66		
50		720	720				45	45	146	66
60				146						45
70		720	480		146	66			66	
80			350					20		20
90	480	480		66			20		45	
100	350	350		45	66				20	
			146							
				20	45					
			66							
		146	45							
				20						
	146	66								

Product



EzStandard Native

イージースタンダード ネイティブ

型式	WSE-7016
コード	2332344
バンドサイズ	20, 45, 66, 146, 350, 480, 720, 1,048, 1,236 kDa
主成分	緩衝液、グリセリン
容量	100 μL × 5 本
保存	-20℃
使用期限	製造より 1 年
価格 (税別)	37,800 円

SDS-PAGE には使用できません

WSE-7011

イージーアプライ ネイティブ

EzApply Native



- ▶ Native PAGE 用サンプルバッファー
- ▶ 10 × 濃度

タンパク質抽出液に 1/10 容量添加します。様々な Native PAGE に使用可能です。



Product



EzApply Native

イージーアプライ ネイティブ

型式	WSE-7011
コード	2332317
容量	40 mL (10x 濃度)
保存	4℃ (製造より 1 年保存可能)
価格 (税別)	9,800 円

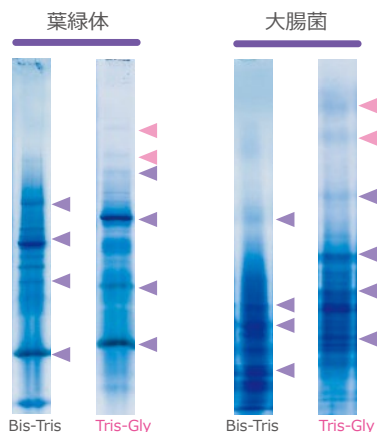
WSE-7056

イージーラン クリアネイティブ

EzRun ClearNative



High-Resolution-Clear-Native PAGE (HR-CN-PAGE) は、弱い陰イオン性界面活性剤を利用してタンパク質の酵素活性を保持したまま電気泳動する Native PAGE のひとつです。HR-CN-PAGE は、元々 Bis-Tris ゲルがベースとなって開発された泳動法であり、Tris-Glycine 系ゲルには適さない方法でした。EzRun ClearNative は、Bis-Tris 系ゲルで得られる泳動パターンと相関性を保ちながら、SDS-PAGE でよく利用されている Tris-Glycine 系ポリアクリルアミドゲルで HR-CN-PAGE ができる、画期的な泳動用バッファーです。



※ ◀で示したバンドは Tris-Gly 系ゲルでのみ検出できたスーパーコンプレックス

HR-CN-PAGE

Bis-Tris 系ゲル：
Bis-Tris 系の CN-PAGE
Wittig ら *Mol Cell Proteomics* (2007)
の方法に準拠
Tris-Glycine 系ゲル：
EzRun ClearNative で泳動

Product



EzRun ClearNative

イージーラン クリアネイティブ

型式	WSE-7056	
コード	2332313	
キット内容	陽極用泳動バッファー (5x)	500 mL
	陰極用泳動バッファー (5x)	500 mL
保存	室温 (製造より 1 年保存可能)	
価格 (税別)	16,800 円	

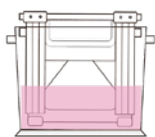
※ Bis-Tris 系ゲル、Tris-Tricine 系ゲルには使用できません

Protocol

電気泳動の方法

Step 1

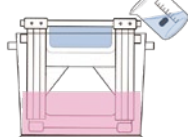
電気泳動槽にゲルをセットして下部槽 (陽極側) に 1 x の EzRun ClearNative 陽極用を入れます



※泳動槽により入れる泳動バッファーの量が異なります

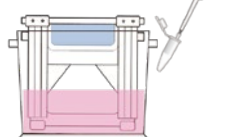
Step 2

上部槽 (陰極側) に 1 x の EzRun ClearNative 陰極用を入れます



Step 3

サンプルをアプライします



電気泳動
スタート

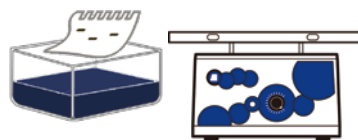


150V 定電圧で 80 ~ 95 分泳動します (ミニサイズゲルの場合)

ゲルの染色方法

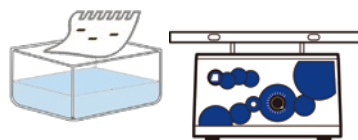
染色

電気泳動後のゲルを EzStainAqua で染色します



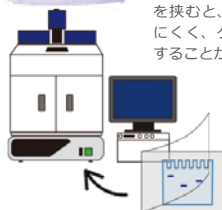
脱色

EzStainAqua で染色したゲルを蒸留水で脱色します



カラー撮影

※ピタットクリア (撮影用フィルム) にゲルを挟むと、気泡が入りにくく、クリアに撮影することができます

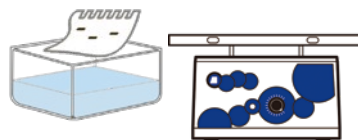


Printgraoh Classic で撮影します

プロットングの方法

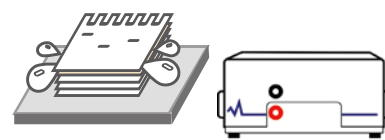
※ EzFastBlot HMW を使用したセミドライ式、もしくは一般的なウェット式の転写方法を推奨

ゲルの平衡化



① 0.1% となるように SDS を添加した 1 x EzFastBlot HMW に浸漬、振とうさせ 20 分間平衡化します
② ① で平衡化したゲルを 1 x EzFastBlot HMW に浸漬、振とうさせ 10 分間リンスします

プロットング



③ プロットング装置の電極板にろ紙、PVDF 膜、ゲルを順番に重ねます
④ プロットング装置を電源に接続しプロットングします
※プロットング後の膜は、通常通り染色やブロッキング~抗体反応~検出を行います

明視野 / 発光 / 蛍光撮影



EzStainAqua MEM で染色した PCDF 膜は Printgraoh Classic で撮影します

抗体反応を行った PVDF 膜は LuminoGraph II EM で検出します

Applications

Data タンパク質の活性染色

HR-CN-PAGE



Native PAGE



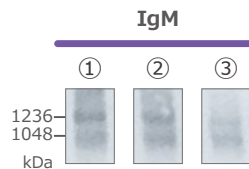
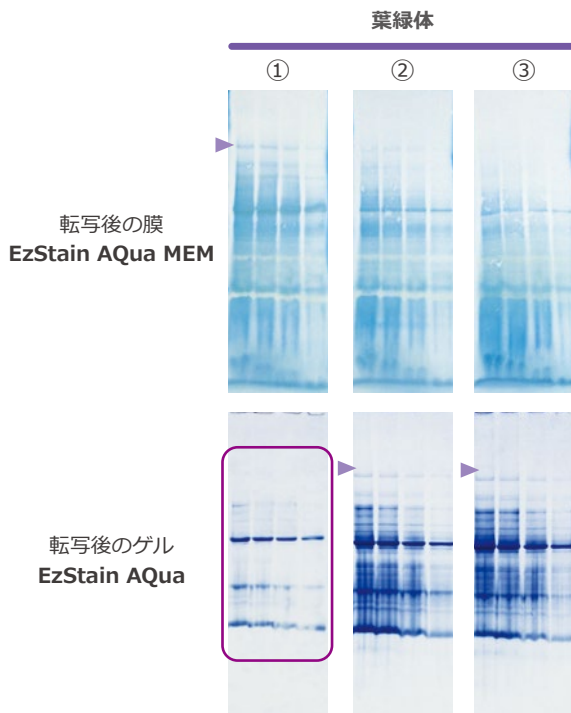
SDS PAGE



ゲル：UH-T420
泳動条件：150V, 85分 (1 × EzRun ClearNative)
検出：WSE-5400 Printgraph Classic

左図は、HR-CN-PAGE法、従来のNative PAGE法、SDS-PAGE法で泳動分離した後に、β-Galactosidaseの活性染色を行った結果を示しています。HR-CN-PAGE法は、従来のNative PAGE法と同様に、酵素活性を阻害することなく検出することが可能です。一方で、SDS-PAGE法では、SDSが酵素活性に影響を与えるため、バンドが検出できません。このようにHR-CN-PAGE法は、酵素活性の検出に適しています。

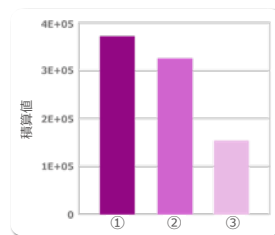
Data HR-CN-PAGEのブロッキング



HR-CN-PAGE

ゲル：UH-T314
泳動条件：150V, 90分 (1 × EzRun ClearNative)
転写条件：EzFastBlot HMW 12V, 60分
転写前のゲル前処理条件：下表を参照
膜染色：EzStain AQUa MEM
ゲル染色：EzStain AQUa
膜染色後の撮影：WSE-5400 Printgraph Classic
ブロッキング：EzBlock CAS
1次抗体：Anti-IgM HRP Conjugated
検出：EzWestLumi plus
撮影：LuminoGraph II EM

1236kDaの転写効率の比較



左図はIgMの1236kDaのバンドを、CS Analyzerで解析して、転写効率を比較しました。

転写前のゲル前処理方法

①	2段階平衡 1) 0.1% になるようにSDSを添加した1 × EzFastBlot HMWに泳動後のゲルを浸漬、振とうして20分間平衡化 2) 1 × EzFastBlot HMWにゲルを浸漬、振とうさせ10分間リンス
②	ブロッキングバッファーで平衡化 1 × EzFastBlot HMWに泳動後のゲルを浸漬、振とうさせ30分間平衡化
③	ブロッキングバッファーでリンス 泳動後のゲルを1 × EzFastBlot HMWでリンス

上図は、HR-CN-PAGE法で泳動分離した後に、泳動後のゲルを上表の条件で前処理し、EzFastBlot HMW (高分子用高速転写バッファー)で転写を行った結果を示しています。②、③に比べて①は、転写後のゲルにバンドが残っておらず、転写効率が向上しており、特に高分子(▶で示したバンドなど)は良好に転写できることが確認できます。Native PAGEで分離されたタンパク質固有の電荷しか持たないため、SDS処理で負電荷を付与することで転写効率が向上すると考えられます。

Products

コードNo.	型式・名称	数量	価格(税別)
2332595	WSE-7210 EzFastBlot HMW	1本 高分子用高速ブロッキングバッファー	12,800円
2332375	WSE-7160 EzStain AQUa MEM	1セット 膜用タンパク質検出CBB染色脱色試薬キット	24,800円
2332617	WSE-1477 EzBlock CAS	1本 カゼイン含有ブロッキング試薬	12,800円
2332637	WSE-7120S EzWestLumi plus	1セット 高感度HRP用発光基質	12,800円
2305405	WSE-5400A-CP Printgraph Classic	1式 ゲル撮影用装置 本体・コントローラー	1,280,000円
2305427	落射WhiteLEDプレートセット	1セット ゲル、PVDF膜撮影用白色落射光源	100,000円
2110030	CS Analyzer Ver.4 (Windows版)	1本 ゲル撮影・イメージング 画像解析ソフトウェア	250,000円

WSE-7057

イージーラン ブルーネイティブ

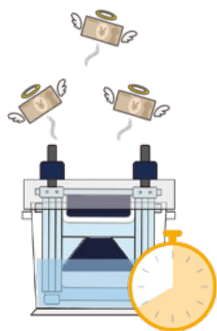
EzRun BlueNative

Blue-Native PAGE は、タンパク質コンプレックスをそのままの形で電気泳動する Native PAGE のひとつとして、Schägger ら *Anal. Biochem.* (1991) によって開発されました。Blue-Native PAGE は Bis-Tris 系ゲルや Imidazole 系ゲルを使用する方法が一般的です。これらの試薬や既製ゲルは高価で、実験費用が非常にかかるため、Blue-Native PAGE はなかなかハードルの高い手法であると思われています。

EzRun BlueNative は、SDS-PAGE でよく利用されている Tris-Glycine 系のポリアクリルアミドゲルで Blue-Native PAGE ができる、画期的な泳動用バッファーです。実験のコストを抑えながらも従来の Bis-Tris 系ゲル等を使用した方法と遜色のない泳動パターンを得ることができます。

Bis-Tris 系ゲル

Bis-Tris 系 Native PAGE 用
泳動バッファーで泳動



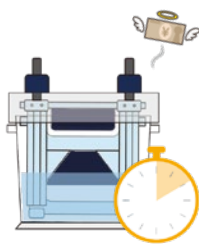
50 ~ 100V 定電圧で泳動時間は
180 ~ 360分

Tris-Gly 系ゲル

EzRun BlueNative で泳動

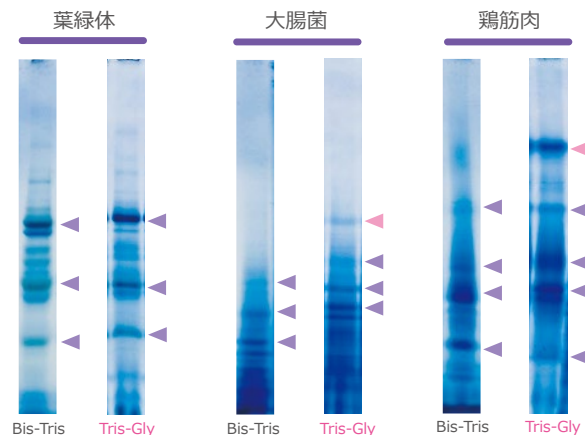
実験のコストダウン！

泳動時間の大幅な短縮が可能！



150V 定電圧で泳動時間は
80 ~ 90分

BN-PAGE

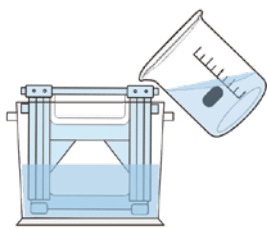


※ ◀で示したバンドは Tris-Gly 系ゲルでのみ検出できた
スーパーコンプレックス

Protocol

Step 1

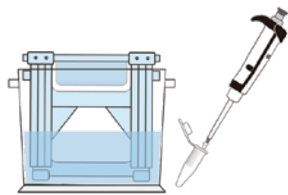
EzRun BlueNative を
泳動槽に入れます



※泳動槽により入れる泳動バッ
ファーの量が異なります

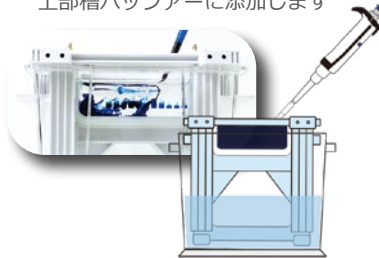
Step 2

サンプルをアプライします

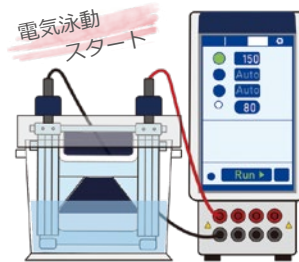


Step 3

BlueNative Buffer Additive を
上部槽バッファーに添加します



上部バッファーの 1/100 量を添加します

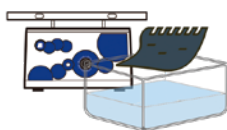


電気泳動
スタート
150V 定電圧で 80 ~ 90 分泳動
します (ミニサイズゲルの場合)

Step 4

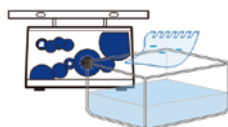
泳動後のゲルを脱色液※に入れ
ゲルを固定します

※脱色液 : 50%メタノール、12.5% 酢酸溶液



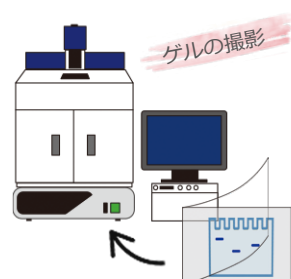
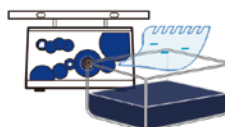
Step 5

バックグラウンドが透明にな
ったら蒸留水に浸漬し、
振とうさせます



Step 6

EzStain Aqua (CBB 染色液) に入れ
ゲルを染色します
その後、蒸留水に浸漬して脱色します



ピタットクリア (撮影用フィルム)
にゲルを挟むと、気泡が入りにくく、
クリアに撮影することができます

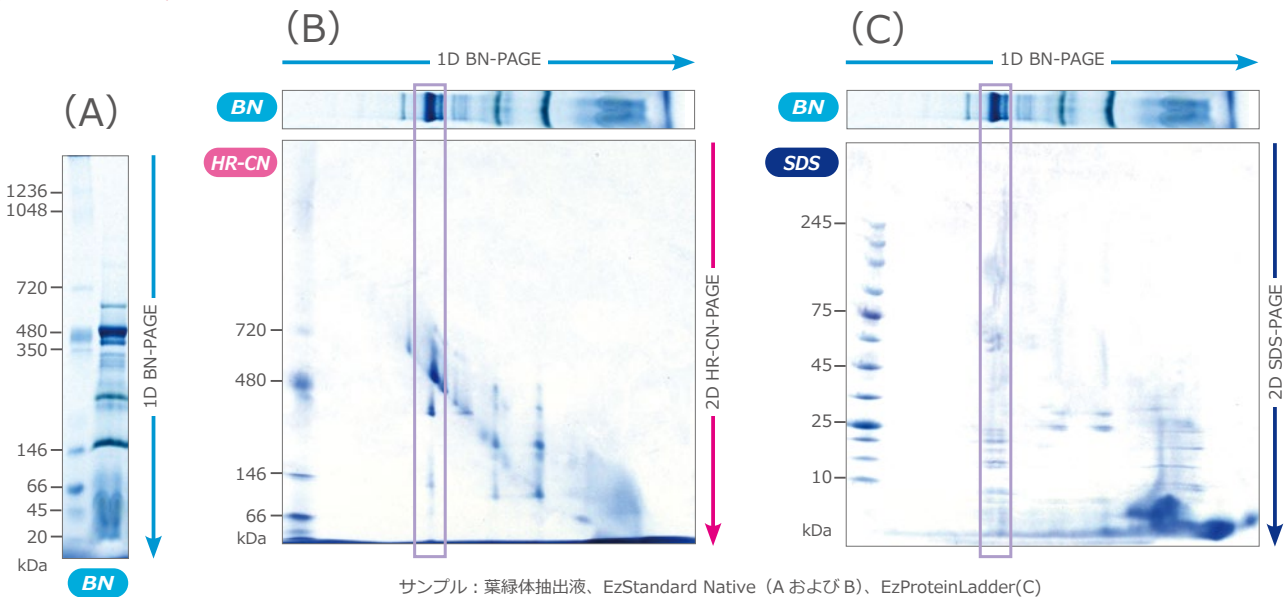
Applications

Blue-Native PAGE の “Blue” の秘密

- 1 CBB は陰イオン性の色素であり、タンパク質の表面に結合する性質を持っています。
CBBが結合したタンパク質は負の電荷を帯びるため、タンパク質自身が持つ電荷の影響が抑えられ、分子量に応じて陽極へと流れていきます。
- 2 CBB が表面に結合することで、タンパク質コンプレックスの安定性を高める働きがあります。
SDS-PAGE で用いられる SDS は強い変性作用をもった界面活性剤であるため、タンパク質コンプレックスが解離してしまいます。
CBB は溶解度が高いため、可溶化したタンパク質コンプレックスに CBB が結合することで、タンパク質の溶解度が上がります。
そのため界面活性剤がなくても安定に保たれ、界面活性剤を含まないゲルと泳動バッファーで電気泳動をすることができます。
- 3 CBB はタンパク質に定量的に結合する性質があります。
CBB が結合したタンパク質コンプレックスは、分子の大きさに応じて電気泳動されます。

Data

2次元電気泳動 タンパク質コンプレックスの解析



サンプル：葉緑体抽出液、EzStandard Native (A および B)、EzProteinLadder(C)
 (A)：UH-T314、EzRun BlueNative で 150V,80 分泳動
 (B)：(A) のゲルの 1 レーンを切り取り、自作 3-10% (2D 用) で 50V,30 分 → 100V,30 分 → 150V,70 分泳動
 泳動後に EzStainAqua で染色し、Printgraph Classic で撮影
 (C)：(A) のゲルの 1 レーンを切り取り、自作 4-20% (2D 用) で 300V,30 分泳動
 泳動後に EzStainAqua で染色し、Printgraph Classic で撮影

上図は葉緑体抽出液を Blue-Native PAGE(A) により 3-14%の u-PAGEL H で分離し (1 次元目)、さらにこのゲルを HR-Clear- Native PAGE(B) および SDS-PAGE(C) で 2 次元展開した結果を示しています。

BN-PAGE はタンパク質コンプレックスが解離することなく電気泳動されますが、HR-CN-PAGE で 2 次元展開すると 1 本だったバンドが 2 本以上になっており (B)、ごく弱い界面活性剤でも解離するコンプレックスであることがわかります。一方で、SDS-PAGE は強い界面活性剤と還元剤をとともう加熱処理によりコンプレックスはバラバラに解離します。実際、SDS-PAGE により 2 次元展開したゲル (C) では、1 次元目の BN-PAGE で 1 本のバンドとして見えていたタンパク質が、SDS-PAGE による 2 次元展開によって、こんなにたくさんのタンパク質で構成されていることがわかります。さらにこの後に 3 次元、4 次元の電気泳動を行い、目的とするタンパク質をより深く解析することも可能です。

u-PAGEL H はタンパク質コンプレックスのような高分子のタンパク質の解析にも最適な既製ポリアクリルアミドゲルです。

Product



EzRun BlueNative イーザーラン ブルーネイティブ

型式	WSE-7057
コード	2332315
構成	EzRun BlueNative (電気泳動用バッファー) 1 本 BlueNative Buffer Additive (陰極/バッファー用添加溶液) 1 本
容量	EzRun BlueNative : 500mL (10 倍希釈) BlueNative Buffer Additive (陰極/バッファー用添加溶液) : 25mL (100 倍希釈) ※当社ミニスラブ電気泳動槽使用の場合 → 10 回分
保存	室温
使用期限	製造より 1 年
価格 (税別)	12,800 円

※ Bis-Tris 系ゲル、Tris-Tricine 系ゲルには使用できません

本誌記載の価格 (税抜き) および製品仕様は予告なく変更する場合がありますので、ご了承ください。最新の情報などに関しましては当社ホームページでご確認ください。

高分子電気泳動関連製品

試料調製



電気泳動関連試薬

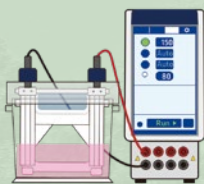


ヒートブロック、シェーカー、遠心機



コードNo.	型式名称	数量		価格 (税別)
2332319	WSE-7424 EzProteolysis Native	1セット	Native PAGE用タンパク質抽出試薬	20,800円
2332339	WSE-7423 EzBactYeastCrusher	1セット	大腸菌・酵母 タンパク質抽出試薬	16,800円
2332336	WSE-7420 EzRIPA Lysis kit	1セット	全タンパク質抽出用RIPA可溶性バッファー	12,800円
2332337	WSE-7421 EzSubcell Extract	1セット	動物細胞 (オルガネラ) 分離抽出試薬キット	48,800円
2332338	WSE-7422 EzSubcell Fraction	1セット	動物細胞 (核・ミトコンドリア) 分画試薬キット	45,800円
2332317	WSE-7011 EzApply Native	1本	Native PAGE用サンプル調製試薬	9,800円
2332330	AE-1430 EzApply	1セット	SDS-PAGE試料調製用バッファー	9,800円
2332380	WSE-7430 EzPBS(-)	1本	細胞調製用リン酸緩衝生理食塩溶液	7,800円
4002610	WSC-2610 MyMiniBLOCK	1台	小型ブロックインキュベータ	59,800円
4002620	WSC-2620 PowerBLOCK	1台	汎用ブロックインキュベータ	148,000円
4002630	WSC-2630 PowerBLOCK Shaker	1台	振とう式ブロックインキュベータ	288,000円
4002615	WSC-2615 MyMiniBLOCK C&H	1台	小型ブロックインキュベータ 冷却・加熱対応	99,800円
4002800	WSC-2800 MyMiniVortex	1台	ポルテックスミキサー	39,800円
4002700	WSC-2700 MyMiniSpin	1式	小型遠心機	48,000円

電気泳動



電気泳動槽



電源装置

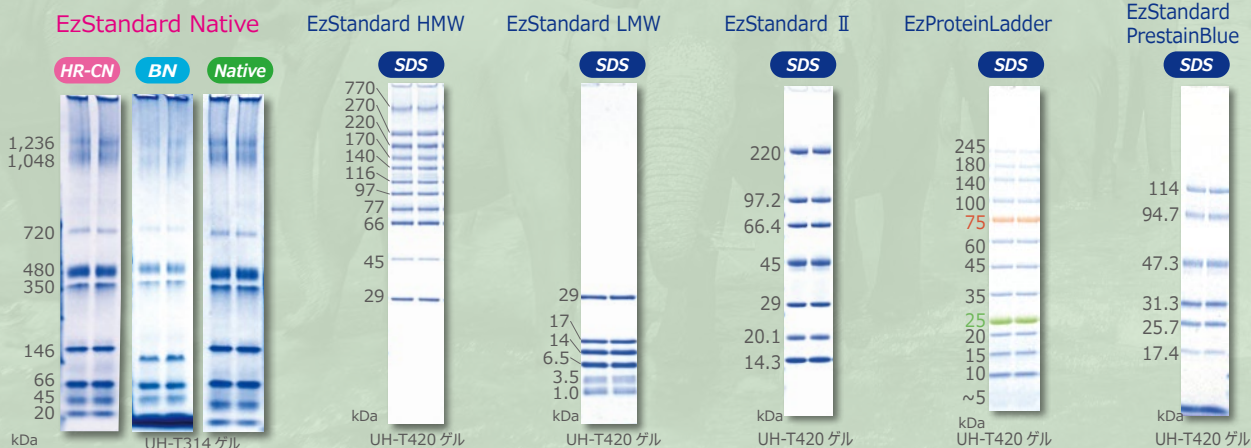


コードNo.	型式名称	数量		価格 (税別)
2332313	WSE-7056 EzRun ClearNative	1セット	HR-CN-PAGE用電気泳動バッファー	16,800円
2332315	WSE-7057 EzRun BlueNative	1セット	BN-PAGE用電気泳動バッファー	12,800円
2332310	AE-1410 EzRun	1袋	Tris-Glycine-SDS高速泳動バッファー (10L)	6,800円
2332326	WSE-7065 EzRun MOPS	1本	Tris-MOPS-SDS系PAGE用電気泳動バッファー	8,800円
2332323	WSE-7055 EzRun TG	1本	Tris-Glycine系PAGE用電気泳動バッファー	6,800円
2321905	AE-6530P ラピダス・ミニスラブ電気泳動槽 (PAGEL仕様)	1台	ミニスラブサイズ ポリアクリルアミドゲル電気泳動槽	52,800円
2321670	WSE_1150P パジエラン Ace	1台	電源付ミニスラブサイズ ポリアクリルアミドゲル電気泳動槽	128,000円
2322197	WSE-1165 ラピダス・ミニスラブ電気泳動槽	1セット	ミニスラブサイズ ポリアクリルアミドゲル電気泳動槽	88,000円
2311130	WSE-3100 パワーステーション ギブリ I	1台	最新型高性能電源装置	248,000円
2311145	WSE-3200 パワーステーションⅢ	1台	電気泳動用高性能電源装置	198,000円

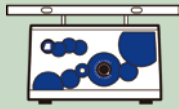
分子量スタンダード

コード No.	型式名称	分子量範囲、バンド数	容量	価格
2332344	WSE-7016 EzStandard Native*	Native PAGE用, 20 ~ 1,236 kDa, 9本	100 µL × 5本	37,800円
2332343	WSE-7035 EzStandard HMW	高分子用, 29 ~ 770 kDa, 11本	100 µL × 4本	29,800円
2332348	WSE-7025 EzStandard LMW	低分子用, 1 ~ 29 kDa, 6本	100 µL (20 × 濃度)	20,800円
2332341	WSE-7015 EzStandard II	エコノミー, 14.3 ~ 220 kDa, 7本	500 µL	14,800円
2332346	WSE-7020 EzProtein Ladder	プレステイン, 5 ~ 245 kDa, 13本	250 µL × 2	25,800円
2332347	AE-1450 EzStandard PrestainBlue	プレステイン, 17.4 ~ 114 kDa, 6本	300 µL	16,280円

* EzStandard Native は Native PAGE 用です。EzStandard Native 以外の分子量スタンダードは SDS-PAGE 用です。



染色

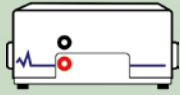


ゲルの染色
Application Note



コードNo.	型式名称	数量		価格 (税別)
2332370	AE-1340 EzStain AQua	1本	タンパク質検出用CBB染色溶液	12,800円
2332350	AE-1310 EzStain Reverse	1セット	タンパク質検出用リバース染色試薬キット	18,800円
2332360	AE-1360 EzStain Silver	1セット	タンパク質・核酸検出用銀染色試薬キット	18,800円
2312200	WSC-2400 シーソーシェーカー-atto	1台	振とう装置	138,000円
2305405	WSE-5400A-CP Printgraph Classic	1式	ゲル撮影用装置 本体・コントローラ	1,280,000円
2305426	落射WhiteLEDプレートセット	1セット	ゲル、膜撮影用白色透過光源	100,000円

転写



ブロッキング試薬



ブロッキング装置



コードNo.	型式名称	数量		価格 (税別)
2332595	WSE-7210 EzFastBlot HMW	1本	高分子用高速ブロッキング用バッファー	12,800円
2332590	AE-1465 EzFastBlot	1本	高速ブロッキング用バッファー	12,800円
2332600	AE-1460 EzBlot	1セット	ブロッキング用バッファー	15,800円
2322443	WSE-4057 QBlot kit M	1箱	トランスファーバック (平衡化済PVDF膜、Wash Buffer付)	19,800円
2332375	WSE-7160 EzStainAQua MEM	1セット	膜用タンパク質検出CBB染色試薬キット	24,800円
2322490	WSE-4115 PoweredBlot Ace	1台	電源付セミドライブロッキング装置	148,000円
2322496	WSE-4125 PoweredBLOT 2M	1台	電源付セミドライブロッキング装置	218,000円
2322466	WSE-4025 HorizeBLOT 2M	1台	セミドライ式ブロッキング装置	128,000円
2311130	WSE-3100 パワーステーション ギブリ I	1台	新型デジタル電源装置	248,000円
2311124	WSE-3500 パワーステーションHC	1台	ブロッキング用高電流型電源装置	198,000円

検出

Application Note
ウェスタンブロッキングのコツ



撮影装置



コードNo.	型式名称	数量		価格 (税別)
2332615	WSE-1475 EzBlock Chemi	1本	非タンパク質系ブロッキング試薬	12,800円
2332616	WSE-1476 EzBlock BSA	1本	BSA含有ブロッキング試薬	12,800円
2332617	WSE-1477 EzBlock CAS	1本	カゼイン含有ブロッキング試薬	12,800円
2332625	WSE-7230 EzTBS	1本	ウェスタンブロッキング用洗浄溶液	7,800円
2332626	WSE-7235 EzTween	1本	洗浄用Tween溶液	3,800円
2332456	WSE-7140 EzWestBlue W	1本	HRP発色用TMB基質	15,800円
2332632	WSE-7110 EzWestLumi One	1本	HRP用発光基質	13,800円
2332637	WSE-7120S EzWestLumi plus	1セット	高感度HRP用発光基質	12,800円
2006270	WSE-6270 LuminoGraph II EM	1式	最高感度化学発光撮影装置	3,300,000円～

撮影装置のご紹介



Printgraph Classic



LuminoGraph II EM



名称	WSE-5400 Printgraph Classic	WSE-6270 LuminoGraph II EM
カメラ	高感度カラーCMOSカメラ (3メガピクセル) カラー/モノクロ切り替え可能	超高感度冷却 EMCCD カメラ 冷却温度 -40℃ (環境温度 30℃以下)
解像度	2048×1536	2460 × 1620
撮影サイズ	25mm×18mm～200mm×150mm	106 × 70 ～ 273 × 180mm 5ポジション
撮影制御	10インチ タッチ式LCDパネルコントローラ	ImageSaver7 (Windows 版・標準付属) OS : Windows 10/11 (64/32 bit)
フィルター	オレンジフィルター	手動切替 3ポジション
寸法・質量	キャビネット : 340(W)×275(D)×437mm(H) ・ 9.0kg コントローラ : 264(W)×150(D)×222mm(H) ・ 2.5kg	365 (W) × 330 (D) × 580mm (H) ・ 21 kg
電源	AC100～240V 2A 50/60Hz (ACアダプター)	AC100～240V 50/60 Hz 120 W (最大)
価格 (税別)	800,000円～	3,300,000円～

本誌記載の価格(税抜き)および製品仕様は予告なく変更する場合がありますので、ご了承ください。最新の情報などにつきましては当社ホームページをご確認ください。



ご用命は下記販売店までお願い致します



アトー株式会社

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

■URL <https://www.atto.co.jp/> お問い合わせ WEB会員登録の上お問い合わせフォームより