

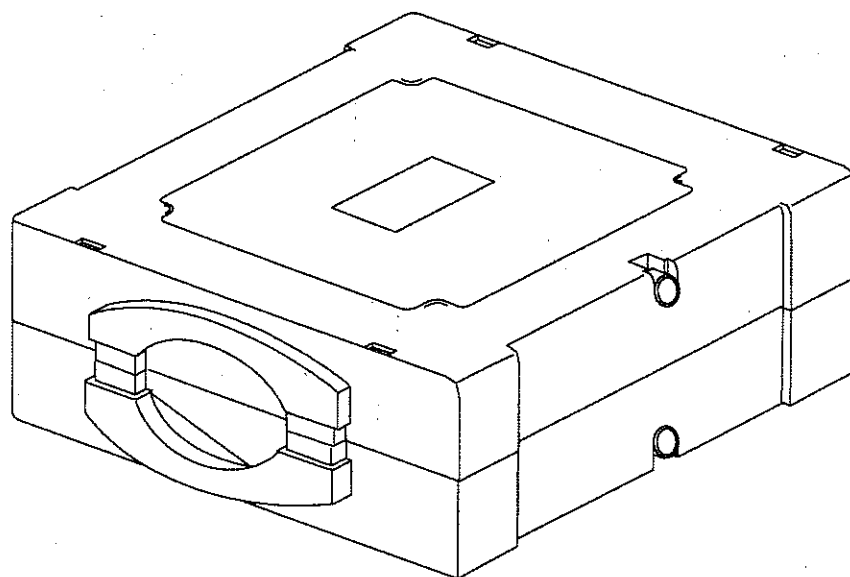
Fine

セミドライトランスファースystem

FSD-300B

オペレーションマニュアル

第一版



目 次

セクション 1	1
概説	1
1.1 はじめに	1
1.2 安全について（使用上の注意）	1
1.3 システム構成部品	2
セクション 2	3
取扱説明	3
2.1 ウエスタンプロットティングの準備	3
2.2 FSD-300B でのウエスタンプロットティング法	4
2.3 ウエスタンプロットティング	4
2.4 サザン／ノーザンプロットティングの準備	5
2.5 FSD-300B でのサザン／ノーザンプロットティング法	5
2.6 サザン／ノーザンプロットティング	6
セクション 3	3
保守・管理	
3.1 清掃	6
3.2 注意	6
3.3 保守	6
セクション 4	7
トラブルシューティング	7
セクション 5	8
製品情報	8
セクション 6	8
リファレンス	8
セクション 7	
FSD-300B 保証規定	
FSD-300B 保証書	

概説

1.1 始めに

FSD-300B では水平型セミドライプロットティングを採用しています。このセミドライプロットティングでは、ステンレススチールと白金コーティングされたチタンの 2 枚の平板電極間にバッファを十分に含んだろ紙のスタックを挟み込み、この中で転写が行われます。

FSD-300B セミドライトランスファースシステムの主な特長としては、バッファの消費を減らすシンプルな構成、均一な電解、高い転写効率、時間の短縮、マルチプルゲルプロットティングがあります。加えて、巧妙に設計された FSD-300B は革新的な機能も有しています。核酸およびタンパク質の転写が可能なこと、そしてスプリングを使用した設計で荷重の均一化、軽量小型化、安全性を図っている点です。

エレクトロプロットティングの歴史

年	発明者	出来事
1975	Southern (1)	DNA のアガロースゲルからニトロセルロース膜への転写法
1979	Towbin (2)	エレクトロプロットティング法の導入
1981	Vaessen (3)	平板電極をエレクトロプロットティング用として初めて実験
1984	Kyse-Andersen (4)	水平型セミドライエレクトロプロットティングを導入

1.2 安全について（使用上の注意）



注意、感電の危険



注意

ユニットをご使用になる前に、以下の点を注意して調べてください。

1. 割れや欠陥がないこと。
2. 平板電極に腐食や傷がないこと。
3. リード線が焦げていないこと。
4. ドアロックに損傷がないこと。

上記の不具合が本体の一部や部品に見つかった際には、ご使用にならず、購入元の販売代理店に速やかにご連絡ください。

ユニットを検査して損傷や欠陥がないことが確認されたら、操作を開始する前に、マニュアル全体および次のガイドラインを十分に注意してお読みいただき、内容をご理解ください。

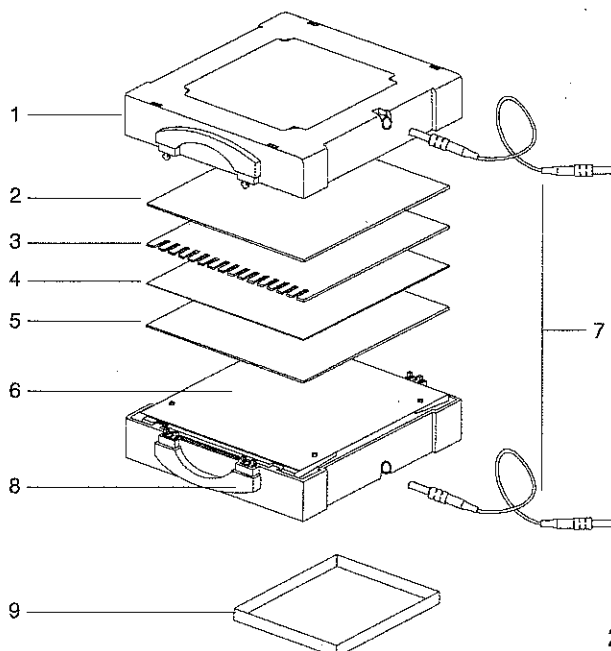
1. 特に指示がない限り、いかなる場合も、またどのような形へもユニットを改造しないでください。
2. 電源はお手持ちのものを使用してください。弊社推奨の電源装置はFPS-1です。
3. リード線はパッケージに付属のものを使用し、それ以外のリード線は使用しないでください。他のリード線を使用すると、ユニットまたは電源に損傷を与えたり、作業者に危険を及ぼす可能性があります。
4. 本ユニットは25V以下で動作させてください。これを超える電圧で動作させると、電極が損傷する原因となります。
5. 陽極側は白金コーティングされたチタンのプレートで、陰極側はステンレススチールのプレートです。極性を逆にしないように気をつけてください。ステンレススチールは陽極酸化に対する耐久性はありません。
6. 50℃を超える周囲温度下での稼働は避けてください。
7. 定電流条件での動作では、稼働中に電圧が上昇します。長時間の稼働はろ紙が乾燥し、焦げるなど危険を伴う恐れがありますので2時間を超える稼働は行わないでください。
8. 使用するバッファのpHにより、電極に対するゲルとブロッキング膜の正しい順序が異なる場合があります。使用する転写バッファの取扱説明書にしたがってください。
9. DNAおよびRNAアプリケーションにはゲル保護フレームを使用してください。ゲル保護フレームを使用しないと、ゲルの破壊が生じることがあります。

注意：FSD-300Bの使用は実験室および屋内使用に限ります。

1.3 システム構成部品

全構成部品については図1を参照してください。

部品名称	数量	備考
上蓋/ステンレススチール平板電極（陰極）	1	平板電極寸法 202 x 205 mm
ゲル保護フレーム	1	19 x 19 cm
下側ベース/白金コーティングチタン平板電極（陽極）	1	平板電極寸法 202 x 205 mm
リード線	2	赤および黒
保証書	1	1年間保証
取扱説明書	1	本書
アダプタ	2	赤および黒
ろ紙（BP-C）	1	15 x 15 cm



1. 上蓋/スプリング式平板電極（陰極）
2. ろ紙
3. ゲル
4. ブロッキング膜
5. ろ紙
6. 下側ベース/スプリング式平板電極（陽極）
7. リード線
8. 下側ベース
9. ゲル支持フレーム

取扱説明

ウエスタンブロッティング

素手でゲルまたは電極板、ろ紙等を汚染しないように、操作中は使い捨てのプラスチック手袋を着用し、作業が終わるまで外さないようにしてください。

2.1 ウエスタンブロッティングの準備

1. 転写バッファシステム

バッファは全て分析級の試薬で調製し、水は脱イオン化再蒸留水を使用してください。セミドライエレクトロブロッティングに使用されるバッファ、特に本ユニットで推奨されているものは Bjerrum および Schafer-Nielsen (5)により記述されており、Kyse-Andersen (4)および Svoboda ら(6)の不連続バッファシステムの転写効率と同等の効率を有しています。

表 1 Bjerrum および Schafer-Nielsen のバッファシステム (1 リットル当たり)

成分	濃度
トリス	48 mM
グリシン	39 mM
SDS	1.3 mM
メタノール	20%

脱イオン化再蒸留水で1リットルの量に調整してください。pHは9.2です。
酸や塩基で pH を調整しないでください。バッファの導電率が変化します。

このバッファは Bjerrum および Schafer-Nielsen システムの代表的なものです。しかし、ゲルや分析するタンパク質の性質、使用するゲルおよび採用する検出法によって他の種類が使用されることがあります。

表 2 Towbin のバッファシステム (1 リットル当たり) (2)

成分	濃度
トリス	25 mM
グリシン	192 mM
メタノール	20%

脱イオン化再蒸留水で1リットルの量に調整してください。pHは8.3です。
酸や塩基で pH を調整しないでください。バッファの導電率が変化します。

表 3 Dunn のバッファシステム (1 リットル当たり) (7)

成分	濃度
NaHCO ₃	10 mM
Na ₂ CO ₃ (無水)	3 mM
メタノール	20%

脱イオン化再蒸留水で1リットルの量に調整してください。pHは9.9です。
酸や塩基で pH を調整しないでください。バッファの導電率が変化します。

2. 電気泳動の後、ゲルを転写バッファで満たしたリザーバ（容器）に入れ、5 分間の平衡を開始してください。
3. プロッティング膜および数枚のろ紙をゲルの大きさに切り、転写バッファに浸してください。気泡が閉じ込められるのを防ぐため、静かに浸すようにしなければなりません。プロッティング膜の前処理方法については、プロッティング膜の取扱説明書を参照してください。
注意：プロッティング膜およびろ紙の浸し方が均一になっていないと、転写効率に悪影響を及ぼす場合があります。
電流の流れを最適にし、ゲルの中だけを流れるようにするために、プロッティング膜およびろ紙はゲルより大きく切らないようにしてください。
ろ紙、プロッティング膜、ゲルを重ねた全体の厚さは 1cm を上限にしてください。
4. 4 枚以上のゲルをそれぞれの上に重ねていくことはお勧めできません。陰極方向に向かうにつれ転写効率が下がります。ゲルを横に並べて置いてください。
注意：数枚のゲルをそれぞれの上に重ねるには、透析膜をそれぞれの間に挟み、ゲルとプロッティング膜が他のゲルから転移してくる物質により汚染されないようにする必要があります。適当な分子量の透析膜を使用し、転写バッファに浸してください。

2.2 FSD-300B でのウエスタンブロッティング法

1. ハンドルの付いている側を左右同時に押し下げると上蓋が外れますので、電極を上に向けて上蓋を置いてください。
2. バッファをしみ込ませた厚い BP-C ペーパー 3 枚を下側ベースの平板電極に置き、気泡を全て取り除いてください。
平板電極のエリアには標準サイズのミニゲル (10×8 cm) を 4 枚並べて置くことができます。
3. あらかじめバッファに浸してあるプロッティング膜を BP-C ペーパーの上に重ね、気泡を全て取り除いてください。
4. このステップの作業は慎重に行ってください。平衡させたゲルをプロッティング膜の上に置きます。この時、ゲルがプロッティング膜の輪郭からはみ出していないことを確認し、気泡を全て取り除いてください。
5. バッファをしみ込ませた残りの BP-C ペーパー 3 枚でゲルを覆うようにしてください。
6. 転写サンドイッチセットができたら、BP-C ペーパーおよびゲルの間に気泡が閉じ込められていないことを再度確認してください。気泡が残っている場合、均一な転写が得られません。
7. ユニットを閉じるには、まずプラグジャック、次にユニットの側面、そして最後にドアロックを合わせます。
8. ハンドルの付いている側を左右同時にラッチが掛かるまで押し下げ、上蓋を下側ベースに完全に固定します。
9. リード線のプラグを、赤を赤（陽極）、黒を黒（陰極）に間違わないようにユニットに差し込みます。次に適当な電源に接続します。

2.3 ウエスタンブロッティング

1. ユニットを電源に正しく接続したら、電源を入れることにより転写が始まります。
2. 転写の推奨条件は下記の通りです。
1 mA/cm² または 0.8 mA/cm² で 30~40 分
電流制限：ミニゲルに対しては 5 mA/cm²、フルサイズのゲルに対しては 3 mA/cm²
注意：電源装置のクロスオーバー機能を使用する場合は電圧のリミットを 25V に設定してください。
3. 転写が完了したら電源を切り、電源およびユニットからリード線を外してください。
4. ハンドルの付いている側を左右同時に押し下げると上蓋が外れますので、電極を上に向けて上蓋を置いてください。
5. これでプロッティング膜は次の分析のための準備ができました。

サザン／ノーザンブロッティング

ゲルまたはブロッティング膜を汚染しないように、操作中は使い捨てのプラスチック手袋を着用し、作業が終わるまで外さないようにしてください。

2.4 サザン／ノーザンブロッティングの準備

1. 転写バッファシステム

バッファは全て分析級の試薬で調製し、水は脱イオン化再蒸留水を使用してください。使用されるバッファは 0.5x TBE です。

表 4 10x TBE (1 リットル当たり)

成分	濃度
トリスベース	108 g
ホウ酸	55 g
EDTA	40 ml 0.5 M, pH 8.0

脱イオン化再蒸留水で 1 リットルの量に調整してください。pH は 8.3 です。

2. 電気泳動の後、ゲルを 0.5x TBE で平衡させてください。

3. ブロッティング膜および数枚のろ紙をゲルの大きさに切り、転写バッファに浸してください。気泡が閉じ込められるのを防ぐため、静かに浸すようにしなければなりません。ブロッティング膜の前処理方法については、ブロッティング膜の取扱説明書を参照してください。

注意：ブロッティング膜およびろ紙の浸し方が均一になっていないと、転写効率に悪影響を及ぼす場合があります。

電流の流れを最適にし、ゲルの中だけを流れるようにするために、ブロッティング膜およびろ紙はゲルより大きく切らないようにしてください。

2.5 FSD-300B でのサザン／ノーザンブロッティング法

1. ハンドルの付いている側を左右同時に押し下げると上蓋が外れますので、電極を上に向けて上蓋を置いてください。
2. バッファをしみ込ませた厚い BP-C ペーパー 3 枚を下側ベースの平板電極に置き、気泡を全て取り除いてください。
注意：ゲルの厚みは 8 mm を上限にしてください。もしくはろ紙を付加してサンドイッチの厚みの上限を 10 mm としてください。
3. あらかじめバッファに浸してあるブロッティング膜を BP-C ペーパーの上に重ね、気泡を全て取り除いてください。
4. このステップの作業は慎重に行ってください。平衡させたゲルをブロッティング膜の上に置きます。この時、ゲルがブロッティング膜の輪郭からはみ出していないことを確認し、気泡を全て取り除いてください。
5. バッファをしみ込ませた残りの BP-C ペーパー 3 枚でゲルを覆うようにしてください。
6. このようにして転写サンドイッチセットができたら、BP-C ペーパーおよびゲルの間に気泡が閉じ込められていないことを再度確認してください。気泡が残っている場合、均一な転写が得られません。
7. ゲル支持フレームをセットしてください。
8. ユニットを閉じるには、まずプラグジャック、次にユニットの側面、そして最後にドアロックを合わせます。
9. ハンドルの付いている側を左右同時にラッチが掛かるまで押し下げ、上蓋を下側ベースに完全に固定します。
10. リード線のプラグを、赤を赤（陽極）、黒を黒（陰極）に間違わないようにユニットに差し込みます。次に適当な電源に接続します。

2.6 サザン／ノーザンブロッキング

1. ユニットを電源に正しく接続したら、電源を入れることにより転写が始まります。
2. 転写の推奨条件は下記の通りです。
3 mA/cm²で 30～35 分
電流制限：6 mA/cm²
注意：電源装置のクロスオーバー機能を使用する場合は電圧のリミットを 25V に設定してください。
3. 転写が完了したら電源を切り、電源およびユニットからリード線を外してください。
4. ハンドルの付いている側を左右同時に押し下げると上蓋が外れますので、電極を上に向けて上蓋を置いてください。
5. これでブロッキング膜は次の分析のための準備ができました。
注意：転写に続いて DNA および RNA を正しく固定してください。

セクション 3

保守・管理

3.1 清掃

箇所	処置
ユニット	水洗いのみとしてください。中性洗剤、その他の洗浄剤は使用しないでください。柔らかい布で拭き取るか、空気乾燥させてください。
腐食または錆びたステンレススチール平板電極	ソフトタイプの研磨性洗剤で洗浄してください。

注意：ユニットから部品をはずさないように注意して作業を行ってください。

3.2 注意

1. 本ユニットでは 25V を超えないようにしてください。
2. 電極を傷つけないようにしてください。
3. オートクレーブによる処理はしないでください。
4. 極性を逆にしないでください。

3.3 保守

部品	破損状態	処置
リード線	断線またはひび割れ	交換
平板電極	傷	修理（販売店にご連絡ください。）
スプリング	弾性劣化	修理（販売店にご連絡ください。）
上蓋	損傷	修理（販売店にご連絡ください。）
下側ベース	損傷	修理（販売店にご連絡ください。）
ドアロック	損傷	修理（販売店にご連絡ください。）

トラブルシューティング

不具合		原因	対策
低転写効率	タンパク質	ゲルのパーセンテージが高過ぎる	%T または %C を下げる
		ろ紙が乾いている	・ 厚い紙を使用するか、枚数を増やす ・ バッファで完全に浸す
		電荷／質量比が不適当	より酸性または塩基性のバッファに変更する
		転写時間が短い	転写時間を長くする
	核酸	転写サンドイッチセットが完全に接触していない	気泡を除去する
		不適当なプロットティング膜が選択されている	プロットティング膜を適当なものにする
		ゲルが高温過ぎる	転写バッファを再調製する
ミスパターン	タンパク質	気泡が存在する	気泡を全て除去する
		ゲルの平衡が不十分	平衡時間を長くする
		転写サンドイッチセットが完全に接触していない	気泡と余分な転写バッファを除去する
パターンの拡散	タンパク質	電力条件が高すぎる	・ 電圧を減らす ・ バッファ成分を確認する
	核酸	ゲルが高温過ぎる	転写バッファを再調製する

製品情報

商品コード	製品内容
000-29-03-03	FSD-300B セミドライ転写ユニット
000-29-03-11	FPS-1 電源装置、110V 50/60 HZ
000-29-03-01	FSE-S セルシステム一式。本システムには、6.5 x 7 cm のトレイ、1.0 mm の 10 本歯および 1.0 mm の 15 本歯の高さ固定コームが各 1 個ずつ付属しています。
000-29-03-02	FSE-M セルシステム一式。本システムには、10 x 15 cm のトレイ、1.0 mm の 15 本歯および 1.0 mm の 20 本歯の高さ固定コームが各 1 個ずつ付属しています。

リファレンス

1. Southern, E. M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98, 503-7.
2. Towbin, H., Staehelin, T., and Gordon, J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 4350-4354.
3. Vaessen, R.T.M.J., Kreike, J., and Groot, G.S.P. 1981. Protein transfer to nitrocellulose filters. A simple method for quantitation of single proteins in complex mixtures. *FEBS Lett.*, 124, 193-196.
4. Kyse-Andersen, J. 1984. Electroblotting of multiple gels: A simple apparatus without buffer tank for rapid transfer of proteins from polyacrylamide to nitrocellulose. *J. Biochem. Biophys. Meth.*, 10, 203-209.
5. Bjerrum, O.J., and Schafer-Nielsen, C. 1986. Electrophoresis '86 proceedings of the fifth meeting of the international electrophoresis society. Dunn, M.J., ed.
6. Svoboda, M., Meuris, S., Robyn, C., and Christophe, J. 1985. Rapid electrotransfer of proteins from polyacrylamide gel to nitrocellulose membrane using surface-conductive glass as anode. *Anal. Biochem.*, 151, 16-23.
7. Dunn, S.D. 1986. *Anal. Biochem.*, 157, 144.
8. Sambrook, Fritsch and Maniatis. 1989. *Molecular Cloning, A laboratory Manual*. Second edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
9. *Current protocols in Molecular Biology*. 1989. Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience.

FSD-300B 保証規定

1. 取扱説明書の注意書きに従った使用状態で、保証期間内に故障した場合には、無償修理をさせていただきます。
 2. 無償修理をご依頼になる場合には、お買いあげの販売店に製品と本書を添付してご指示いただき、お申し付け下さい。
 3. ご転居の場合の修理ご依頼先は、弊社までお問い合わせ下さい。
 4. ご贈答品等で本保証書に記入の販売店で修理をお受けになれない場合は、弊社までお問い合わせ下さい。
 5. 保証期間内でも次の場合には原則として有料修理にさせていただきます。
 - a) 使用上の誤り、及び不当な修理や改造による故障及び損傷
 - b) お買いあげ後の輸送、落下などによる故障及び損傷
 - c) 火災、地震、水害、落雷、その他天災地変による故障、及び損傷
 - d) 車両、船舶等に搭載された場合に生ずる故障、及び損傷
 - e) 本書のご呈示がない場合
 - f) 本書にお買いあげ年月日、お客様名、販売店名の記入がない場合、あるいは字句を書き換えられた場合
 - g) 部品が摩耗した場合
 6. 本書は日本国内においてのみ有効です。
This warranty is valid only in Japan.
 7. 本書は再発行いたしませんので、大切に保管して下さい。
- ※ この保証書は、本書に明示した期間、条件の下において、無償修理をお約束するものです。従ってこの保証書によってお客様の法律上の権利を制限するものではありません。保証期間経過後の修理、補修用性能部品の保有期間についてご不明の場合は、弊社までお問い合わせ下さい。

FSD-300B 保証書

本書はお買いあげの日から下記期間中故障が生じた場合に、
前述記載内容で無償修理を行うことをお約束するものです。

保証期間	本品お買い上げの日より 1 年		
※お買い上げ日	年	月	日
お客様	施設名		
	部署名		
	お名前		
	ご住所	〒 - TEL: FAX:	
※販売店	住所・店名 TEL:		

販売店様へ ※印欄は必ず記入してお渡し下さい。

販売元 東京硝子器械株式会社

本 社 〒101 東京都千代田区鍛冶町 2 丁目 5-10
TEL:03-3252-3461 FAX:03-3252-9509
URL:<http://www.TGK.co.jp>

※ この取扱説明書に記載の仕様及び付属品の内容を予告なく変更させていただくことがありますのでご了承下さい。

※ この取扱説明書の一部または、全部を無断で複写複製、転載することは法律で禁じられています。