

Rethink Western Blotting

MERCK

ウェスタンブロットの結果から
何を読み取りますか？



The Life Science business
of Merck operates as
MilliporeSigma in the
U.S. and Canada.

Millipore®

Preparation, Separation,
Filtration & Monitoring Products

ウェスタン ブロッキングのツール

メルクでは、ウェスタンブロッキングの
ワークフローにおける各作業工程を
スムーズに行える製品設計を行っています。
ぜひご覧ください。



メルクは世界をリードするライフサイ
エンスブランドを数多く有しています。
弊社のエキスパートが卓越した製品と
サービスをもって、お客様のあらゆる
ニーズに応え、どんなに難しい問題で
あっても解決をサポート致します。

Millipore®

The Millipore® portfolio of Merck offers an ecosystem of industry-leading products and services, spanning preparation, separation, filtration and monitoring – all of which are deeply rooted in quality, reliability and timetested processes. Our proven products, regulatory and application expertise are a strong foundation you can rely on to consistently perform at the highest level.

Sigma-Aldrich®

The Sigma-Aldrich® portfolio of Merck offers a strong and ever-expanding offering of lab and production materials. Through our technical support and scientific partnerships, we help connect our customers with a whole world of progress.

ウェスタンブロットリング（イムノブロットリング）は、ラボで非常によく使用されている手法の1つですが、一貫した質の高い結果を得るのは困難です。メルクは、継続的な問題解決と安定した技術サポートを提供することで、ウェスタンブロットに関して何十年もの間、研究者を支援してきました。

Millipore® 製品に加えて、Sigma-Aldrich® の製品ポートフォリオも有しているメルクのカatalogには、Immobilon® トランスファーメンブレンや、ECL 検出用基質、Roche cOmplete® プロテアーゼ阻害剤カクテルといったウェスタンブロットリング用製品が、非常に多く掲載されています。イムノブロットの信頼性やスピード、感度の向上だけでなく、限られた時間内で出版に耐えうる定量性を確実に発揮できる革新的なソリューションを、メルクは追求し続けています。

ウェスタンブロットリングに関して詳しく知りたい方は、本カatalogの最後にあるトラブルシューティングのセクションをご覧ください。下記のサイトよりアクセスしてください。
SigmaAldrich.com/westernblot

目次

4	タンパク質抽出およびサンプル調製
7	タンパク質定量
8	電気泳動
16	タンパク質の転写
21	免疫検出
32	検出
37	アクセサリ
39	トラブルシューティング
42	注文情報

タンパク質抽出 およびサンプル調製	タンパク質定量	電気泳動	タンパク質の転写	ブロッキングおよび抗体反応	検出
穏やかなタンパク質抽出法を用いたキット	タンパク質 アッセイ キット	mPAGE®プレキャストゲル mPAGE® TurboMix® Bis- Tris アクリルアミドゲル キャスト液 mPAGE®ゲルキャストター・ ミニゲルタンク	Immobilon® PVDF・NC製 タンパク質高吸着メンブ レン	SNAP id® 2.0システムを使用し た30分間のプロット処理	Immobilon®ウェ スタンHRP基質
PureProteome™磁気ビーズ を用いた迅速なタンパク質分 離		分子量マーカー	ブロッキングペーパー	Immobilon®シグナルエンハン サー	Immobilon®プレ ミックスHRP基質
Amicon™ Ultra遠心フィル ターを用いた高速で効率的な 濃縮		ポリアクリルアミドゲル 自作用試薬	ブロッキングバッファー	～75,000種類のウェスタンブ ロットリング用一次抗体： SigmaAldrich.com/antibodies	発色基質
		バッファー	mPAGE®ウェットトランス ファーシステム		
		タンパク質用ゲル染色液	タンパク質用プロット染色 液	標識二次抗体	AP検出用基質
		Auto2D®自動2次元電気 泳動装置			

タンパク質抽出・ サンプル調製

ウェスタンブロットにおいて、出版に耐えうるレベルの結果を得るために必要な、高品質のライセートまたは精製タンパク質サンプルを得るには、多くの課題をクリアする必要があり、多くの専門家はその第一段階として、タンパク質の抽出と精製のステップを乗り越えなければならないことを認識しています。メルクの試薬は、優れた性能を持っていることに加えて、タンパク質を不適切な条件にさらさないためのスピードを兼ね備えており、下流の分析工程での使用に適した、安定でインタクトなタンパク質を提供することが可能です。

タンパク質抽出・調製のベストプラクティス：

- 細胞種・組織・生物に適した分画技術で抽出を行うことが可能
- 適切な酵素阻害剤を使用することで、サンプルを内因性のプロテアーゼおよびホスファターゼによる分解から保護

抽出キットおよび プロテアーゼ阻害剤

タンパク質の安定性は、ウェスタンブロッティングを用いた解析を含め、タンパク質研究のあらゆる場面における基本です。穏やかなタンパク質抽出法を用いたキットとプロテアーゼ阻害剤を組み合わせることで、活性を保ったまま安定かつインタクトな形でタンパク質を得ることが可能です。

- 非機械的な抽出を行うことができる BugBuster™ や CytoBuster のキットおよび試薬は、可溶性タンパク質を変性させることなく、簡便かつ迅速に抽出することができます。
- SIGMAFAST™ や Roche cOmplete® 阻害剤タブレットを同時に使用することで、安定かつインタクトなタンパク質の収量を最大化することが可能です。
- Benzonase® ヌクレアーゼを添加することで核酸を分解し、細胞抽出液の粘度を下げるすることができます。
- Stablyser™ 試薬を使用すれば、単一のライセート混合物において、核酸と機能性タンパク質の両方を保護することが可能です。

メルクではあらゆるタイプの抽出キットおよび試薬を取り揃えており、お客様がお使いの細胞や組織、目的のタンパク質に最適な抽出プロトコルを構築できるよう、豊富な選択肢を提供しています。

製品スポットライト

解凍をスキップ

タンパク質サンプルの品質は、研究者の要求に応えられる信頼性の高い結果を得るために重要です。ReadyShield® 阻害剤カクテルは凍結しない仕様のため、いつでも使用したいときにすぐ可以使用です。ReadyShield® プロテアーゼ阻害剤カクテルは、哺乳類、植物、微生物など、さまざまな細胞タイプや組織抽出物に対して最適化され、セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、酸性プロテアーゼ、アミノペプチダーゼに対して幅広い特異性を示す阻害剤を含んでいます。

ReadyShield® フォスファターゼ阻害剤カクテルや、混合カクテルも取り揃えており、お客様のタンパク質サンプルのニーズに最適なものを見つけることができます。

ReadyShield® プロテアーゼ阻害剤カクテルの特徴と利点：

- 保存中に凍らないのですばやく便利に使用可能
- 哺乳類細胞および組織抽出物に合わせた処方
- ヒト胎盤、ウシ肝臓、A431、CHO、U937 細胞抽出物を含むさまざまなサンプルタイプでテスト済み
- スクリュートップバイアルで提供
- 冷蔵庫で約 1 カ月、室温で 1 週間保存可能

詳細については、ReadyShield® フォスファターゼおよびプロテアーゼ阻害剤カクテル FAQ、[SigmaAldrich.com/readshieldsfaq](https://www.sigmaaldrich.com/readshieldsfaq) をご覧ください。



Sigma-Aldrich®
Lab & Production Materials

アフィニティ精製

アフィニティ精製は、標的分子と固定化したリガンドの特異的相互作用をベースとした精製法です。メルクでは、アフィニティ磁気ビーズ、アフィニティアガロースレジン、プロテアーゼ切断酵素など、タンパク質精製のための幅広いツールを提供しています。また、メルクの除去試薬を使用することで、解析に混乱を生じる可能性のある無関係のタンパク質の多くを排除し、サンプルが目的のタンパク質を大量に含むよう調製することが可能です。

- PureProteome™ 磁気ビーズは、免疫沈降や血清除去・濃縮など、少量で行うアフィニティ精製アッセイに最適です。
- アフィニティアガロースは、抗体や組換えタンパク質の精製など、大容量で行うアプリケーションに適しています。
- プロテアーゼ切断酵素は、制限酵素グレードまたは融合タンパク質の切断用キットとして入手可能です。

精製ポートフォリオ

アプリケーション	磁気	アガロース
IPおよび抗体精製	プロテインA	プロテインA
	プロテインG	プロテインG
	κIgバインダー	プロテインG / プロテインA
	λIgバインダー	
組換えタグ精製	His•Tag精製	His•Tag精製
	HIS-Select精製用レジン	GST•Tag精製
	GST•Tag精製	S•Tag精製
	FLAGタグ精製	Strep•Tag II精製
		T7•Tag精製
		FLAG、3X FLAG発現/精製
プロテアーゼ切断	トロンビン、Factor Xa、エンテロキナーゼ、HRV 3Cプロテアーゼ	
ビオチン標識分子精製	ストレプトアビジン	ストレプトアビジン
カスタムラベル	NHS FlexiBind	
	Carboxy FlexiBind	

バッファー交換および濃縮

Amicon™ Ultra 遠心フィルターを使用すると、サンプルの濃縮と脱塩を同時に行えます。他の製品と比べて迅速かつ高い再現性を誇るこの製品は、タンパク質を傷つけてしまうバッファーへのばく露を最小限に抑えることができます。また、透析を速やかかつ手軽に行いたい場合は、D-Tube Dialyzer を使用すれば、わずか2～5時間の処理で、89%を超える回収率で99.9%の脱塩を行うことが可能です。



タンパク質定量



QuantiPro™ BCAアッセイキット

このキットには、少量のサンプルに含まれる非常に希薄なタンパク質の濃度を測定できる試薬・材料が含まれています。

- チューブアッセイでは 0.5 ~ 30 µg/mL、96 または 384 ウェルプレートアッセイでは 1 ~ 20 µg/mL のタンパク質濃度を正確に測定できます。

ブラッドフォード試薬

ブラッドフォード法は、タンパク質と Brilliant Blue G の複合体形成に基づいたアッセイです。

- 試薬は調製済みですぐに使用でき、混合や希釈は不要です。
- 発色は迅速です。5 分間のインキュベーションの後、595 nm でサンプル測定を行います。
- ジチオトレイトールやチオールといった還元剤がアッセイに干渉することはありません。
- 試薬は、微量 (1 ~ 10 µg/mL) および標準的 (50 ~ 1,400 µg/mL) なアッセイに対応しています。

Sigma-Aldrich®
Lab & Production Materials

電気泳動

電気泳動は、ウェスタンブロット解析において、抽出したタンパク質を分離するためにもっとも一般的に使用されている技術です。ゲルに電流を流すと、サンプル中のタンパク質が異なる速度で移動し、それぞれが持つ固有の特性に従って担体内で分離します。もっとも一般的な方法であるドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) の場合、タンパク質は分子量に応じて分離されます。ゲルの化学的性質や泳動条件、アクリルアミドの割合が異なるとタンパク質の移動度も変化するため、結果を最適化するためには考慮する必要があります。

電気泳動のベストプラクティス

ゲルおよびバッファーの選択	アクリルアミド濃度やランニングバッファーを含め、タンパク質サンプルおよび解析対象に適したゲル電気泳動システムを選択します。
サンプル調製	SDS-PAGEの場合、サンプルをドデシル硫酸ナトリウムで処理してタンパク質を変性させ、サンプル全体の電荷を平衡化します。ジスルフィド結合を持つタンパク質を含むサンプルには、ジチオトレイトール (DTT) などの還元剤を添加する必要があります。
ロード	コントロールサンプル (ポジティブ、ネガティブなど) を必ずロードして、結果の信頼性を確保します。文献に記載されている標的タンパク質の分子量 (kDa) を参考にしながら分子量マーカースelectionし、タンパク質サイズの推定や、泳動の進行と転写効率の確認を行います。
染色	電気泳動終了後にゲルを染色することで、タンパク質がたしかに移動していることを視覚的に確認することができます。

Product Spotlight

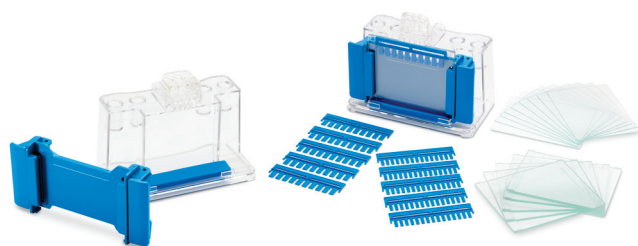
mPAGE® ゲルキャスター・ミニゲルタンク

メルクのmPAGE® ミニゲルシステムは、タンパク質の電気泳動およびウェスタンブロットングのためのソリューションを提供します。

mPAGE® のゲルキャスターおよびミニゲルタンクは、高分解能のプレキャストまたはハンドキャストのゲルで電気泳動を行い、ブロットングメンブレンに転写するリークフリーのソリューションを提供します。

mPAGE® TurboMix® Bis-Tris アクリルアミドゲルキャスト液や mPAGE® プレキャストゲルに最適化しております。

mPAGE® ゲルキャスター



ゲルのサイズは 8 cm x 10 cm で、ゲル厚は 0.75 mm、1.0 mm、1.5 mm、サンプルロード用のウェルは、10 ウェルまたは 15 ウェルから選択できます。mPAGE® ゲルキャスターは、ミニゲルを簡単にリークフリーで作製できるように設計されています。

どのような組み合わせにも対応できるよう、ゲルキャスターは単品がプレート (0.75 mm、1.0 mm、1.5 mm の 3 種類のミニスパーサープレートとショートプレート) とコーム (10 ウェルまたは 15 ウェル) のセットから選ぶことができます。

ご注文情報

詳細	カタログ番号
mPAGE® Caster, 2 pk Device for hand casting mini gels, does not include plates or combs	GCR2
mPAGE® Casting Kit, 0.75 mm For hand casting mini gels with 0.75 mm thickness, includes plates and combs	MGCK-75M
mPAGE® Gel Casting Kit, 1.0 mm For hand casting mini gels with 1.0 mm thickness, includes plates and combs	MGCK-10M
mPAGE® Gel Casting Kit, 1.5 mm For hand casting mini gels with 1.5 mm thickness, includes plates and combs	MGCK-15M

mPAGE® ミニゲルタンク



mPAGE® ミニゲルタンクは 1 度に 2 枚もしくは 4 枚のゲルを泳動可能な 2 種類のセットをご用意しており、間違った組み立てやリークを防ぐ構造になっています。

このタンクでは、10 cm x 8 cm の mPAGE® ミニゲルキャスターで作成したゲルか、mPAGE® プレキャストゲルを使用することが可能です。

ご注文情報

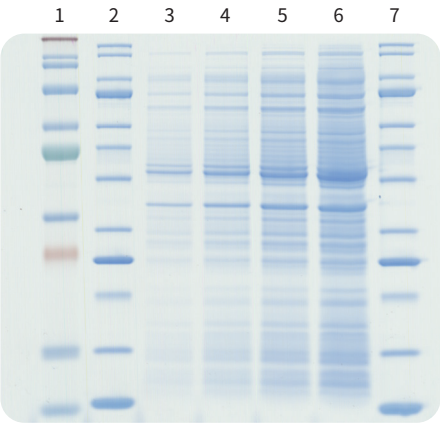
詳細	カタログ番号
mPAGE® Mini Gel Tank, 2-gel	MGT-2
mPAGE® Mini Gel Tank, 4-gel	MGT-4

mPAGE® TurboMix® Bis-Tris アクリルアミドゲルキャスト液

ゲルキャストリングを加速 目覚ましい分解能 処理時間の短縮

mPAGE® TurboMix® の利点

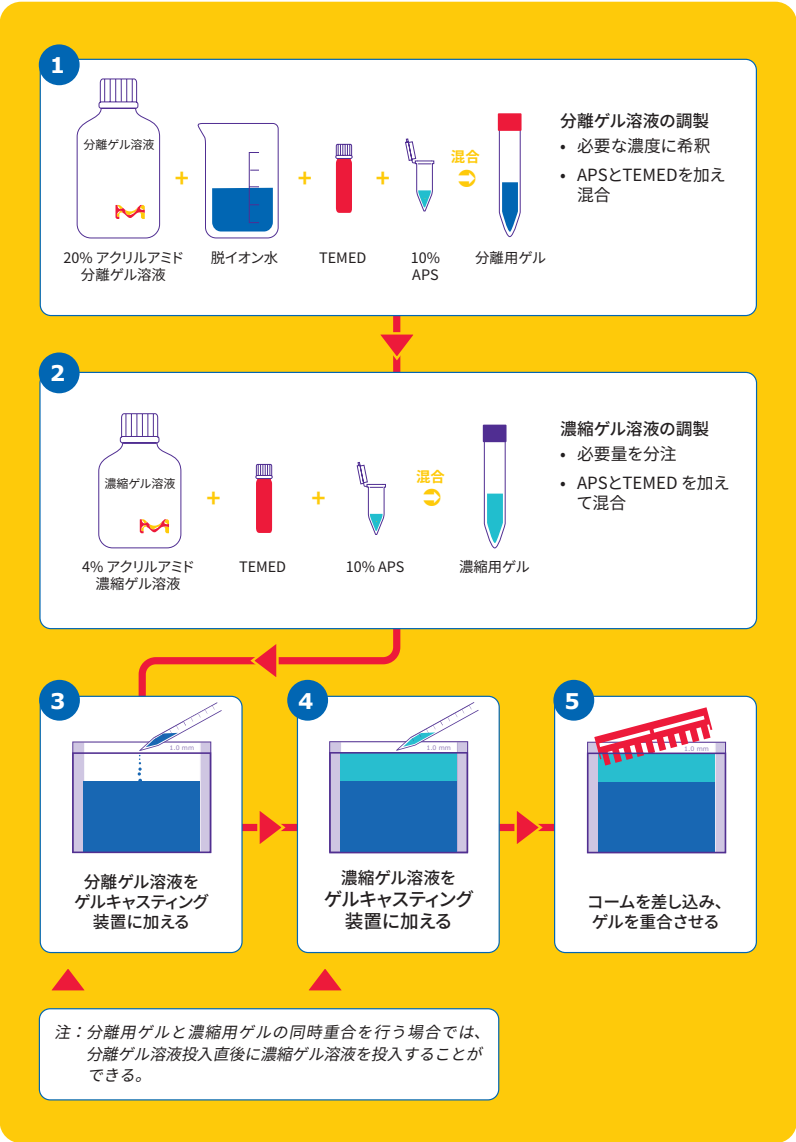
- 時間の節約：プレミックスですぐに使えるアクリルアミドバッファー溶液により、手のかかる準備時間を短縮できます。
- 迅速なゲル作製プロトコル：Quick Cast プロトコルにより、分離用ゲルおよび濃縮用ゲルの同時重合が可能です。
- 分解能の改善：中性 pH の泳動条件により、標準的な Tris-Glycine ゲルと比較してタンパク質修飾が抑制され、バンドが明確になります。
- 柔軟性：希釈が簡単。8 ～ 15% の濃度のアクリルアミドゲルを作製でき、分子量 6 ～ 400 kDa のタンパク質を分離します。
- キャストゲルの有効期間を延長：適切な保管により 3 ～ 4 週間使用可能。中性 pH により Tris-Glycine ゲルよりも安定性が改善しました。



E. coli ライセート (レーン 3 ～ 6)、mPAGE® 未染色タンパク質標準物質 (レーン 2 および 7)、および mPAGE® 着色タンパク質標準物質 (レーン 1) をロードした 12% TurboMix® Bis-Tris ハンドキャストゲル。ゲルは 200 V で 35 分間、MOPS バッファーを用いて泳動し、ReadyBlue® タンパク質ゲル染色液で染色しています。

mPAGE® TurboMix® の Quick Cast ワークフロー

mPAGE® TurboMix® の Quick Cast 法では、簡単な 5 ステップでポリアクリルアミドゲルを作製できます。



ご注文情報

製品名	入数	カタログ番号
mPAGE® TurboMix® Solutions		
mPAGE® TurboMix® Bis-Tris Gel Casting Kit	~10 mini gels	TMKIT-10
mPAGE® TurboMix® Bis-Tris Gel Casting Kit	~60 mini gels	TMKIT-60
mPAGE® TurboMix® Resolving Solution	216 mL	TMRES-216ML
mPAGE® TurboMix® Stacking Solution	120 mL	TMSTK-120ML
試薬類		
Ammonium persulfate (APS) for electrophoresis, ≥98%	25 g	A3678-25G
N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED) ReagentPlus™, 99%	5 mL	T22500-5ML

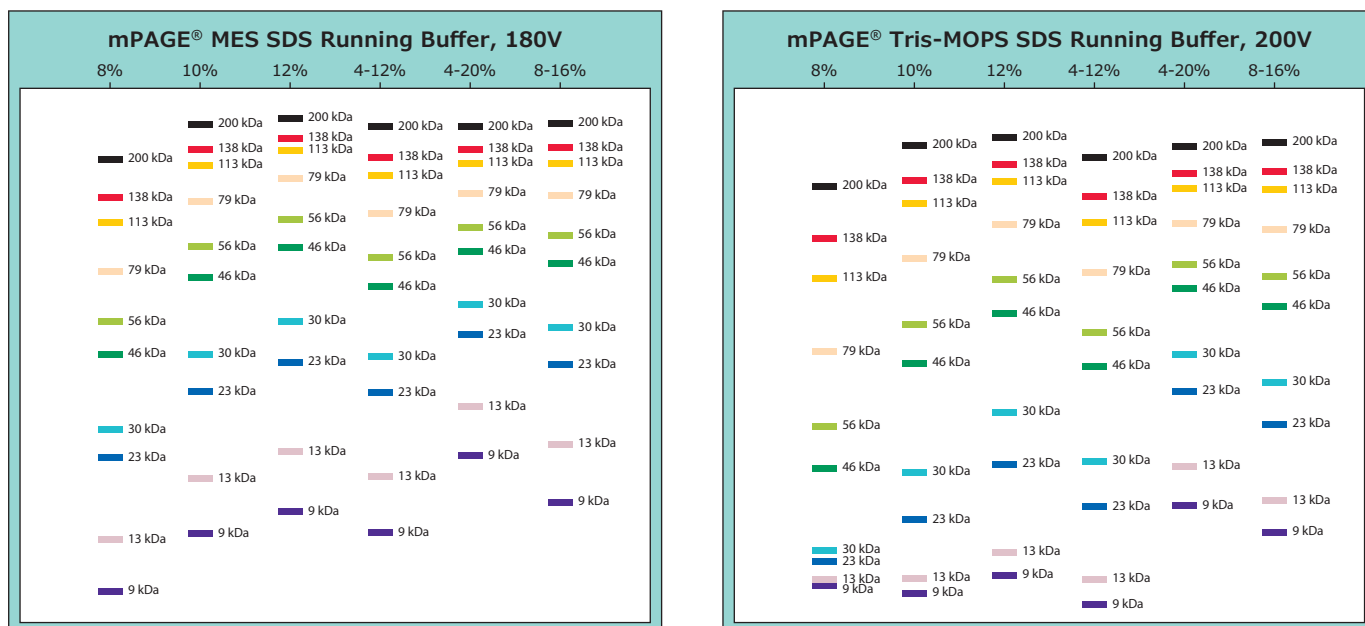
タンパク質電気泳動用mPAGE® Bis-Tris プレキャストゲル

mPAGE® Bis-Tris プレキャストゲルはご購入していただきやすい価格にもかかわらず、高い解像度を損なうことなく泳動時間を短縮でき、大容量のサンプルにも対応できるお客様のタンパク質研究にとって有用なツールとなります。

mPAGE® プレキャストゲルの利点:

- 論文に必要な解像度を低価格で提供
- 一般的な電気泳動槽と互換性あり
- 1 ウェルあたりのサンプル量は最大 80 μ L
- 効率的なウェット式およびセミドライ式ウェスタンブロット転写に対応
- 泳動時間を最大 15 分短縮可能
- 中性の pH でタンパク質の変性を予防

mPAGE®プレキャストゲルの各濃度ごとの分離例



上図を用いてランニングバッファーに MES を用いる場合 (左) と MOPS を用いる場合 (右) の最適なプレキャストゲルの濃度を選定してください。

mPAGE®プレキャストゲルは下記のタンクで使用することができます。

- mPAGE® Mini Gel Tank
- Bio-Rad Mini-PROTEAN® II tanks[※]
- Bio-Rad Mini-PROTEAN® Tetra System[※]
- Sigma-Aldrich Dual Run and Blot System
- Thermo Fisher Scientific X Cell II™ and X Cell SureLock™ mini-cell tanks[※]
- LONZA PAGER minigel chamber tanks

※ただし、他社製のタンクの場合、バッファーの漏れを防ぐためにはタンク構成の変更やアダプターが必要になる場合があります。使用前に mPAGE® ユーザーガイドで正しい手順を確認してください。

X Cell II™、X Cell SureLock™は Thermo Fisher Scientific Inc. の登録商標です。PROTEAN® は Bio-Rad Laboratories, Inc. の登録商標です。

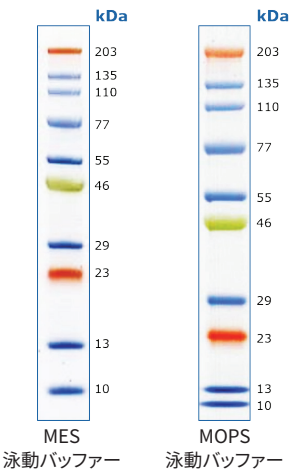
ご注文情報

mPAGE® Bis-Tris プレキャストゲル (10枚/箱)			
アクリルアミド濃度	10-well (80 μ L/well)	12-well (60 μ L/well)	15-well (40 μ L/well)
4~12%	MP41G10	MP41G12	MP41G15
4~20%	MP42G10	MP42G12	MP42G15
8~16%	MP81G10	MP81G12	MP81G15
8%	MP8W10	MP8W12	MP8W15
10%	MP10W10	MP10W12	MP10W15
12%	MP12W10	MP12W12	MP12W15

mPAGE® Color Protein Standard

mPAGE® Color Protein Standard には、さまざまな発色団と共有結合した 10 kDa ～ 203 kDa の染色済み組換えタンパク質が、10 種類含まれています。SDS-PAGE 時のタンパク質分離の観察、メンブレン転写効率の確認、およびタンパク質の分子量の概算のためにデザインされています。

- 幅広い分子量範囲に渡る 10 個のシャープな組換えバンド
- 23 kDa と 203 kDa の 2 個のオレンジ色参照バンド
- 46 kDa の 1 個の緑色参照バンド
- 室温で最長 2 週間安定

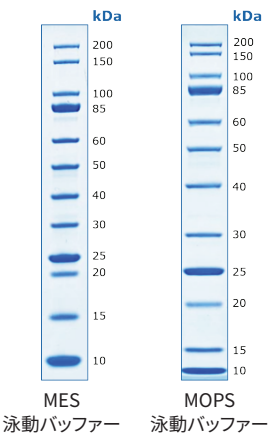


mPAGE® 4 ～ 12% Bis-Tris
ゲルで分離した mPAGE®
Color Protein Standard

mPAGE® Unstained Protein Standard

mPAGE® Unstained Protein Standard には、10 kDa ～ 200 kDa の未染色組換えタンパク質が 12 種類含まれています。85 kDa、25 kDa、10 kDa のバンドは強度が強く、参照ポイントとなります。mPAGE® Unstained Protein Standard は、SDS-PAGE やウェスタンブロットング後の分子量の決定に適しており、染色済みマーカーの移動度の校正標準となります。

- 幅広い分子量範囲に渡る 12 個のシャープな組換えバンド
- 室温で最長 2 週間安定

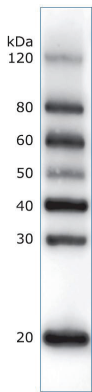


mPAGE® 4 ～ 12% Bis-Tris
ゲルで分離した mPAGE®
Unstained Protein
Standard。ReadyBlue®
Protein Gel Stain で染色。

mPAGE® Western Protein Standard

mPAGE® Western Protein Standard は、ほとんどのタンパク質と結合可能な IgG 結合部位を組み込んだ 7 種類の組換えタンパク質 (20 kDa、30 kDa、40 kDa、50 kDa、60 kDa、80 kDa、120 kDa) で構成されています。この結合部位を追加したことで、追加の試薬を必要とせずに、タンパク質マーカーと標的タンパク質を視覚化することが可能になっています。

- 20 kDa ～ 120 kDa にシャープなバンド
- 追加の試薬不要で簡単に可視化可能



mPAGE® Western Protein Standard を
4 ～ 20% のゲルを用いて SDS-PAGE で
分離し、ニトロセルロースメンブレンに
転写した例

ご注文情報

製品名	容量	カタログ番号
mPAGE® Color Protein Standard	500 µL	MPSTD4
mPAGE® Unstained Protein Standard	500 µL	MPSTD3
mPAGE® Western Protein Standard	250 µL	MPSTD2

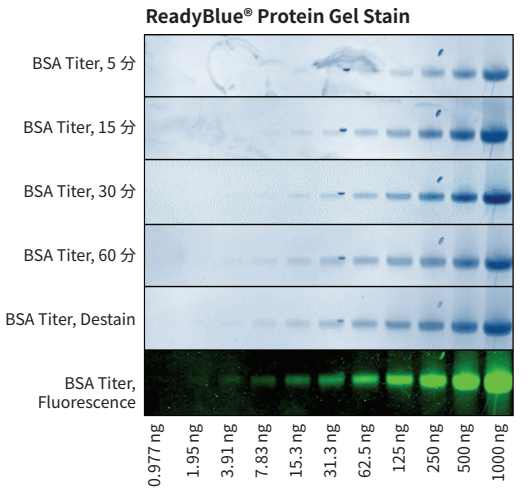
タンパク質ゲル染色

電気泳動による分離の後には、ゲル染色を行い、タンパク質バンドを視認することが一般的です。タンパク質ゲル染色では、タンパク質に選択的な色素結合または発色を生じる化学反応を利用して、ゲルを染色します。タンパク質ゲル染色の方法は通常、初期サンプル数、使用する予定の検出法、および下流の解析工程との適合性に基づいて選択されます。

ReadyBlue® Protein Gel Stain

ReadyBlue® Protein Gel Stain は、染色プロトコルを簡略化し、およそ 5 分の短時間で高解像度の結果を得ることができます。事前の固定ステップは不要で、オプションのマイクロ波ステップにより、染色時間をさらに短縮できます。

- 低バックグラウンドとシャープなバンドで高精度な染色とタンパク質の定量化が可能
- 発色または IR 蛍光 (700 または 800 nm) でのイメージングが可能
- 3 回まで再利用可能
- 有機溶剤やリン酸を不含有
- 質量分析装置互換
- 常温保存ですぐに使用可能



	発色			蛍光	
	EZBlue™ Gel Stain	ReadyBlue® Stain	ProteoSilver™ Stain	EZFluor™ Stain	EZFluor™ UV Stain
感度	≥5 ng	≥5 ng	≥0.1 ng	1~10 ng	1~10 ng
フォーマット	プレミックス溶液	プレミックス溶液	プレミックス溶液	プレミックス溶液	プレミックス溶液
反応時間	60分	5~60分	3~12分	5~60分	5~60分
脱色の必要性	任意	任意	No	任意	任意
利点	• 溶剤廃液なし	• 迅速な反応時間 • 非毒性 • 室温で安定 • 3回まで再利用可能 • 質量分析に対応	• MALDI対応 • 室温で安定	• UVまたは青色光のトランスイルミネーター、またはレーザーゲルスキャナーを使用して観察 • 質量分析に対応 • メタノールや酢酸を含まない水溶性ベース	• UVトランスイルミネーターおよびエチジウムブロマイドフィルターを使用して観察 • 質量分析に対応 • メタノールや酢酸を含まない水溶性ベース

ご注文情報

製品名	容量	カタログ番号
EZBlue™ Gel Staining Reagent	500 mL	G1041-500ML
ReadyBlue® Protein Gel Stai	1 L	RSB-1L
ProteoSilver™ Stain	1 Kit	PROTSIL1-1KT
EZFluor™ 1-step Fluorescent Protein Gel Stain	1 L	SCT145-1L
EZFluor™ UV 1-step Fluorescent Protein Gel Stain	1 L	SCT147-1L

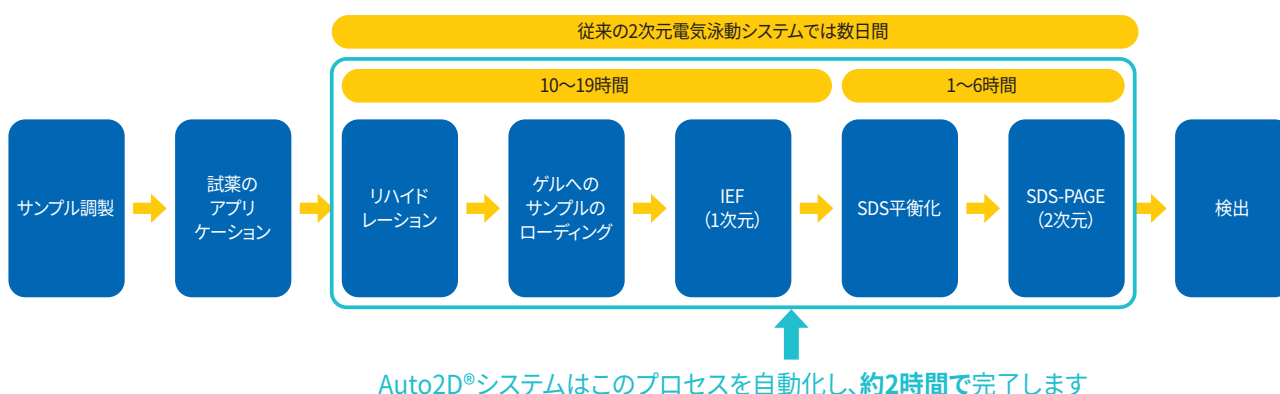
2次元電気泳動

Auto2D® 2次元電気泳動装置

メルクの新しい Auto2D® 2 次元電気泳動装置は、2 次元電気泳動を完全に自動化し、タンパク質解析を単純化して、ユーザーに依存しない一貫性の高い再現性のある結果を提供します。Auto2D® システムの効率的な工学技術により、サンプルのローディングから等電点電気泳動、平衡化、SDS-PAGE までにかかる時間が、これまでの 4 ～ 24 時間から、わずか 1 ～ 2 時間に大きく短縮されました。このため、Auto2D® は、市販されている他の半自動化 2 次元電気泳動システムに比べて特別な価値を発揮します。



2次元電気泳動ワークフローとAuto2D®により自動化されるプロセス



Auto2D® 2次元電気泳動装置の長所

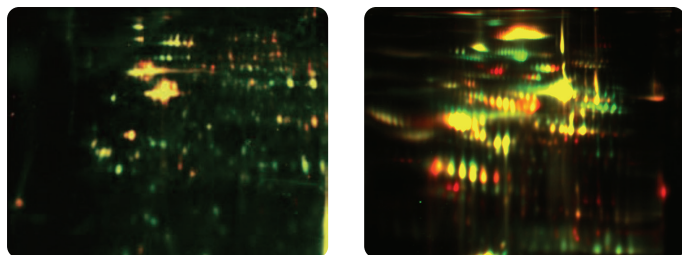
- ・ 操作が簡単：従来の 2 次元電気泳動の面倒な取り扱い手順をカット
- ・ 高い再現性：自動化により、操作者による変動や日々の変動を抑制
- ・ 高速分離：60 ～ 120 分で迅速に結果を取得
- ・ 良好なサンプル分解能：短時間でリン酸化シフトまで分離可能

使用例

Auto2D® 2 次元電気泳動装置は、以下の用途に使用できることが示されています。

- ・ がん研究におけるタンパク質発現差解析および疾患メカニズムの解明
- ・ 結晶解析や翻訳後修飾解析のための精製タンパク質の分離
- ・ アレルギー研究や細胞シグナル伝達経路解析などの研究領域における 2D ウェスタンブロットティング
- ・ 治療用タンパク質や抗体バイオプロセッシングにおける宿主細胞タンパク質 (HCP) 汚染分析

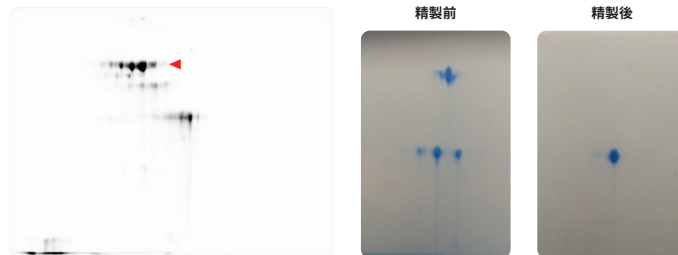
タンパク質発現差解析



細胞および血漿サンプルのタンパク質発現差解析

左：がんバイオマーカー研究のための培養細胞のタンパク質発現差解析。緑色は正常細胞におけるより豊富にあるタンパク質を示す。赤はがん特異的タンパク質スポットを示す。黄色はタンパク質発現の重複を示す。右：血漿サンプルのタンパク質発現差解析。

タンパク質の分離



下流のアプリケーションのためのタンパク質分離と解析

左：治療用抗体製剤の微小不均一性の評価。赤三角は標的抗体のスポットを示す。下方のスポットは分解された抗体である。右：精製前後のタンパク質の解析。結晶化およびX線構造解析のためにサンプルが均一かどうかを2次元電気泳動を用いて確認できる。

Auto2D® 2次元電気泳動装置に関する詳細は、<https://bit.ly/auto2d-gel-electrophoresis> をご覧ください。

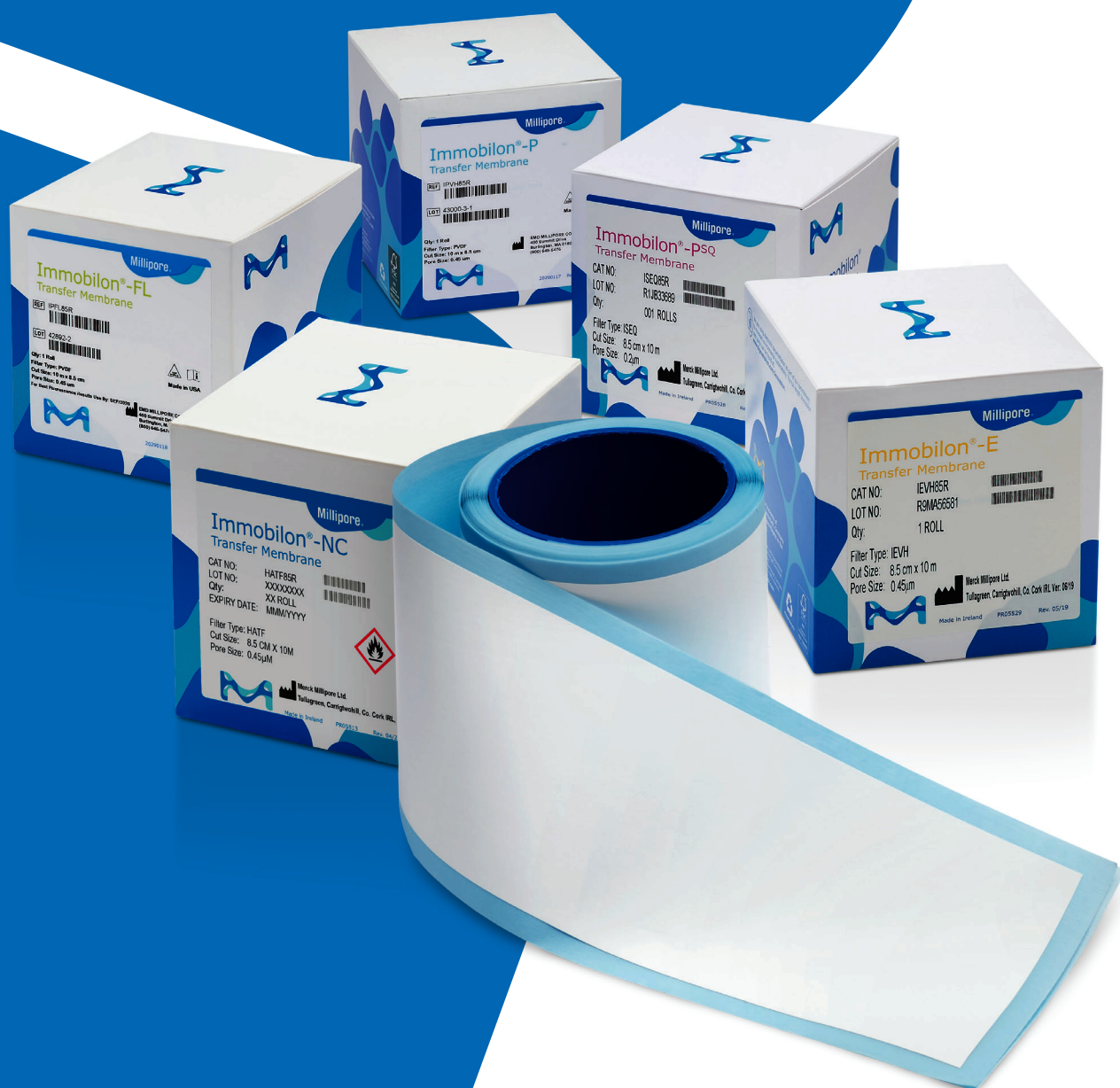
ご注文情報

製品名	入数	カタログ番号
Auto2D®本体		
Auto2D®2次元電気泳動装置	1台	BM-100
Auto2D® (Original) 専用消耗品		
Electrode Chip	1個	BM-1E
Solution Chip	10個	BM-1S
Auto2D® (Plus) 専用消耗品		
Electrode Chip Plus	1個	BM-1EP
Solution Chip Plus	10個	BM-1SP
Auto2D® (Original・Plus) 共用消耗品		
IEF Chip pH 3-10	10個	BM-113010
IEF Chip pH 3-10NL	10個	BM-113010NL
IEF Chip pH 4-7	10個	BM-114070
IEF Chip pH 4-5.5	10個	BM-114055
IEF Chip pH 5-6.5	10個	BM-115065
IEF Chip pH 6-10	10個	BM-116010
IEF Chip pH 7-10	10個	BM-117010
PAGE Chip 6.5%	10個	BM-12065
PAGE Chip 7.5%	10個	BM-12075
PAGE Chip 10.0%	10個	BM-12100
PAGE Chip 12.5%	10個	BM-12125
Tris-Glycine Reagent Kit	1セット	BM-1RYSJ1
Tris-Tricine Reagent Kit	1セット	BM-1RYTJ1

タンパク質の 転写

20,000以上の論文がImmobilon®メンブレンを引用しています

この製品シリーズには、ウェスタンブロットにおいて初めて使用され、かつもっともよく使われている PVDF 膜である Immobilon®-P メンブレンを含む、信頼のおける高品質の転写メンブレンが揃っています。



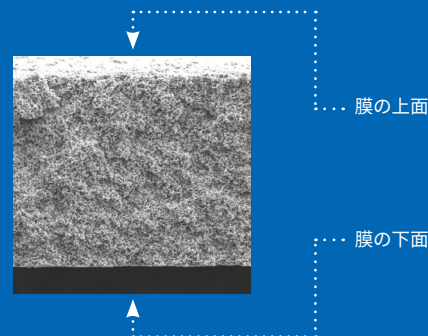
Immobilon®メンブレンはどのように機能するのか？

ポリフッ化ビニリデン (PVDF) 膜は、疎水性相互作用を介して生体分子と結合します。膜孔には、表面の結合面積を増加させる一方で、結合するタンパク質のサイズを制限する働きもあります。

主な利点

- 膜内にタンパク質を強力に吸着・保持することで生じる強いタンパク質シグナル
- 引張強度の高さによる長い使用期限
- ストリッピングおよびリプロービングが簡単
- 最適なタンパク質保持能を持つ膜孔サイズを選択可能

Immobilon®-NC 転写メンブレンは、ニトロセルロースメンブレンを好むお客様のためのソリューションです。分子量が 20 kDa を超えるタンパク質のプロットに最適化したセルロース混合エステル (MCE) メンブレンです。MCE 転写メンブレンは、純粋なニトロセルロースメンブレンよりも力学的強度が改善されています。



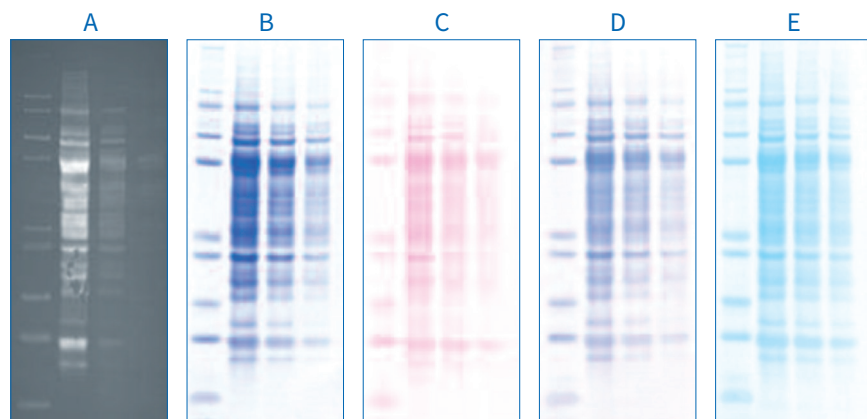
メンブレンは微細な細孔で満たされた 3 次元構造をしています (Immobilon®-P メンブレン断面の走査型電子顕微鏡像、倍率：500x)。

Immobilon®転写メンブレンの比較

製品名		Immobilon®-E	Immobilon®-P	Immobilon®-FL	Immobilon®-P ^{5Q}	Immobilon®-NC	
材質		PVDF	PVDF	PVDF	PVDF	MCE	
孔径		0.45 μm	0.45 μm	0.45 μm	0.2 μm	0.45 μm	
検出方法		化学発光、発色	化学発光、発色	化学発光、発色、 蛍光 (近赤外含む)	化学発光、発色	化学発光、発色	
タンパク質 結合能	Goat IgG	225-293 μg/cm ²	294 μg/cm ²	300 μg/cm ²	448 μg/cm ²	237 μg/cm ²	
	BSA	N/A	215 μg/cm ²	205 μg/cm ²	340 μg/cm ²	N/A	
	Insulin	N/A	160 μg/cm ²	155 μg/cm ²	262 μg/cm ²	N/A	
アプリケーション例		ウェスタンブロット、ドットブロット					ウェスタン、サザンおよび ノーザンブロット、 ドットブロット
		Immobilon® PVDF膜は、耐久性と高いタンパク質保持能を持っているため、抗体のストリッピングおよび リプロービングによって複数の標的タンパク質を連続して検出する場合に適しています。					
選定基準		・ 標的タンパク質が広いダイナミックレンジで発現している ・ 分子量の範囲が広い			・ 標的タンパク質 <20 kDa ・ 標的タンパク質の量が非 常に少ない ・ 抗体の結合能が低い	・ 標的タンパク質の量が 豊富 ・ 分子量の範囲が広い	

非染色でタンパク質を可視化するImmobilon®-Pメンブレンの透過照明観察、他の染色法との比較

転写後、さまざまな方法でタンパク質を視覚的に観察することができます。Immobilon® メンブレンの場合、透過照明法によってタンパク質を直接視覚化することができます (Reig and Klein, 1988)。この方法をイメージングシステムと組み合わせて使用した場合、その検出感度は Coomassie Brilliant Blue R 染色液に匹敵します。



電気ブロットにより仔ウシ肝臓タンパク質を Immobilon®-P メンブレンに転写した後に可視化しました：(A) 透過照明法、(B) Coomassie Brilliant Blue、(C) ボンソー S レッド、(D) アミドブラック、および (E) CPTS 総タンパク質染色液。それぞれのレーンにおいて、左から右に、分子量スタンダードおよび 12.2 μ g、6.1 μ g、3.1 μ g のライゼート。詳細なプロトコルについては、Protein Blotting Handbook をご参照ください。

ご注文情報

製品名	形状	カタログ番号
Immobilon®-E PVDF Transfer Membrane, 0.45 μ m (アルコールによる親水化処理不要でご使用いただけます)	8.5 cm x 10 m ロール	IEVH85R
Immobilon®-P PVDF Transfer Membrane, 0.45 μ m	8.5 cm x 10 m ロール	IPVH85R
Immobilon®-FL PVDF Transfer Membrane, 0.45 μ m	8.5 cm x 10 m ロール	IPFL85R
Immobilon®-P ^{SQ} PVDF Transfer Membrane, 0.2 μ m	8.5 cm x 10 m ロール	ISEQ85R
Immobilon®-NC Transfer Membrane, 0.45 μ m	8.5 cm x 10 m ロール	HATF85R
Immobilon® NOW Dispenser for 8.5 cm x 10 cm rolls		IMDISP

その他の形状のご注文情報は 48 ページをご覧ください。

ウェスタンブロット用 Immobilon® NOW 転写メンブレンロール

プレカットシートのような利便性を備えた柔軟性の高いロール

標準的な転写メンブレンロールを使用する場合、定規とハサミを使って実験で必要なサイズにカットする必要があるため、その分の余計なベンチタイムが生まれます。貴重なメンブレンをこのように扱っていると、長期的には無駄も多くなっていきます。また、プレカットシートは便利ではあるものの、コストがかさんでしまう上に、別のサイズが必要な場合には柔軟に対応できません。

Immobilon® NOW ロールは、プレカットシートの使いやすさとロールの柔軟性を、お客様が使用されているフォーマット (Immobilon®-E、Immobilon®-P、Immobilon®-FL および Immobilon®-P^{SQ} メンブレン) で提供する製品です。

- ・ワンカットの利便性
- ・ミニまたはミディブロットに対応できる柔軟性
- ・フタにサイズを測れる目印があるので、定規が不必要
- ・無駄が出ない仕様
- ・ラボのスペースを節約できる小さなパッケージ



オプションの Immobilon® NOW ディスペンサーがあるとさらに便利です。これ 1 つで、転写メンブレンのサイズ測定、切断、および保管をすべて行うことができます。未使用のメンブレンを容器内に収めるだけで、補充するタイミングも簡単にわかります。

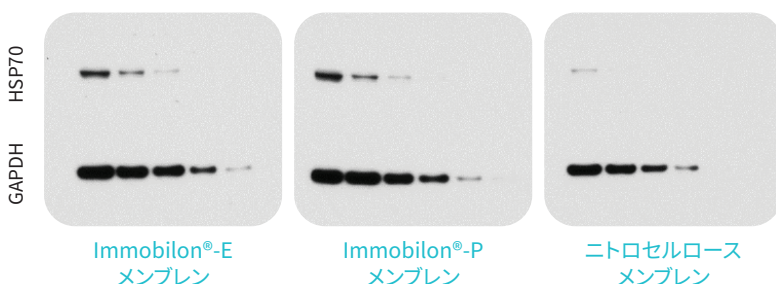
Immobilon®-E 転写メンブレン

アルコールを用いたプレウェットが不要

他の PVDF 転写メンブレンとは異なり、Immobilon®-E メンブレンは、ウェスタンブロッティング前にアルコールを用いたプレウェットのステップを行う必要がありません。標準的な転写バッファー、あるいは水に対してもすぐになじみ、Immobilon®-P メンブレンと同様の実験結果が得られます。

- 他の PVDF 膜よりも短いワークフロー
- 有機廃棄物が少ない
- Immobilon®-P メンブレンと同等の性能

ニトロセルロースのワークフローで使用した場合のPVDF膜の性能



EGF で刺激した A431 細胞のライセート (12-110) を段階希釈し、SDS-PAGE で分離しました。同一のポリアクリルアミドゲルから、Immobilon®-E、Immobilon®-P、およびニトロセルロース膜へとタンパク質を転写しました。3 種類のメンブレンに対して、同一のトレイを使用し、同一の免疫検出処理を行いました。メンブレンを 3% 脱脂粉乳でブロッキングし、HSP70 (SAB4200714) および GAPDH (MAB374) に対する抗体でプローブしました。標的タンパク質を視覚化するために、1 : 40,000 希釈した抗マウス HRP 抗体 (AP124P) を使用し、その後 Immobilon® Classico Western HRP Substrate (カタログ番号: WBLUC0500) で発色を行いました。

低分子タンパク質用のImmobilon®-P^{SQ}転写メンブレン

Immobilon®-P^{SQ}メンブレンはどのように機能するのか？

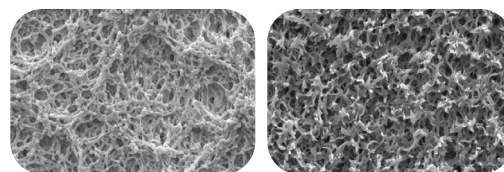
この PVDF 膜は、厚さが ~ 200 μm で、内部表面積は多くのメンブレンのおよそ 3 倍となっています。このような特性のために、Immobilon®-P^{SQ} は高いタンパク質結合能を持ち、低分子タンパク質の保持能が向上しています。

主な利点

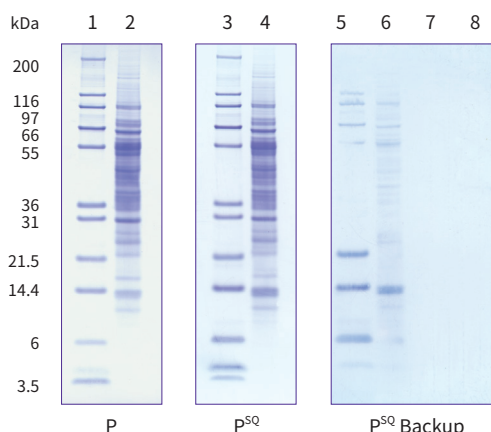
- 高い結合能および保持能がもたらす強力なシグナル
- 低分子量タンパク質 (<20 kDa) の通り抜けを防止
- 化学発光および発色を用いた検出技術に対応

最適な用途：

1. ライセートやヒストンなどの低分子タンパク質 (<20 kDa) を対象としたウェスタンブロッティング
2. 次のような理由によりウェスタンブロッティングが困難な場合：
 - 標的タンパク質量が少ない
 - 抗体の親和性が低い



走査型電子顕微鏡像 (3000 倍)。膜孔の構造が Immobilon®-P^{SQ} メンブレン (右) と Immobilon®-P メンブレン (左) で異なっていることを示しています。

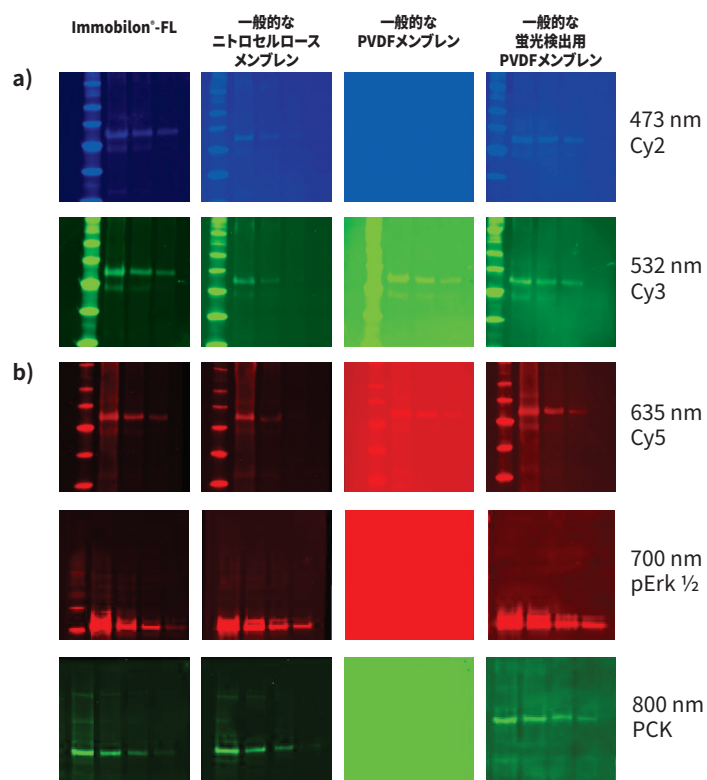


Immobilon®-P^{SQ} メンブレンは、低分子量タンパク質が通り抜けてしまうのを防ぐことで、タンパク質シグナルを増強します。分子量スタンダード (レーン 1 および 3) および仔ウシ肝臓ライセート (レーン 2 および 4) を Immobilon®-P または Immobilon®-P^{SQ} メンブレンに転写しました。1 枚目のメンブレンの後ろにもう 1 枚 Immobilon®-P^{SQ} メンブレンを置き、通り抜けたタンパク質を捕捉しました。(レーン 5 および 6 は Immobilon®-P メンブレンの後ろに置いた場合；レーン 7 および 8 は Immobilon®-P^{SQ} メンブレンの後ろに置いた場合)。

Immobilon®-FL 転写メンブレン

蛍光ウェスタンブロットの際に他のメンブレンではなく Immobilon®-FLを選ぶべき理由は？

膜孔サイズ 0.45 μm のこのメンブレンは、蛍光ベースの検出を行うウェスタンブロットのために最適化された、初の転写メンブレンです。バックグラウンドの自家蛍光が非常に低いため、あらゆる蛍光検出プロトコルにおいて感度を向上させます。

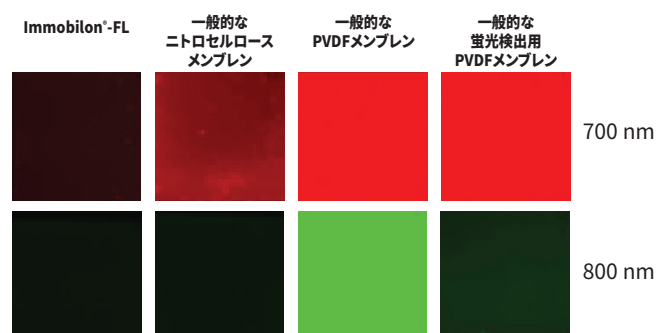


a) 2 倍段階希釈 (10 ~ 2.5 μg/ レーン) したヒト脳ライゼート (カタログ番号: CL302-250UG) を SDS-PAGE で分離し、様々な種類のメンブレンに転写しました。ブロットを抗 GSK3- β 抗体 (カタログ番号: MAB8687) でプローブした後、さらに Cy2、Cy3、または Cy5 で標識した抗ウサギ IgG 抗体 (カタログ番号: AP132J、AP187C、AP187S) を反応させました。真空中で 1 時間乾燥させた後、Fuji FLA-5100 でブロットをスキャンしました。

b) 2 倍段階希釈 (10 ~ 2.5 μg/ レーン) したヒト脳ライゼート (カタログ番号: CL302-250UG) を SDS-PAGE で分離し、様々な種類のメンブレンに転写しました。SNAP id® システムを使用してブロットを抗 GSK3- β 抗体 (カタログ番号: MAB8687) でプローブした後、pErk1/2 または PCK についてもプロービングを行いました。真空中で 1 時間乾燥させた後、Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR) でブロットをスキャンしました。

主な利点

- 近赤外波長 (700 ~ 800 nm) に最適なメンブレン
- 膜上における高いタンパク質結合・保持能がもたらす強力なシグナル
- かすかなバンドも検出できるバックグラウンドの低さ
- ストリッピングおよびリプロービングを繰り返せる高い引張強度



様々な種類のメンブレンにおいて観察されるバックグラウンドの蛍光を比較しました。唯一 Immobilon®-FL メンブレンのみが、700 および 800 nm の両方でバックグラウンドの蛍光が低く、複数の励起および蛍光波長において使いやすいものとなっています。

mPAGE® ミニウェットトランスファースystem

mPAGE® ミニウェットトランスファースystemは、mPAGE® トランスファースystemまたは対応する転写バッファースystemを用いて、最大 2 つのミニゲルから同時に PVDF またはニトロセルロースの転写メンブレンにタンパク質を転写できるシステムです。



ご注文情報

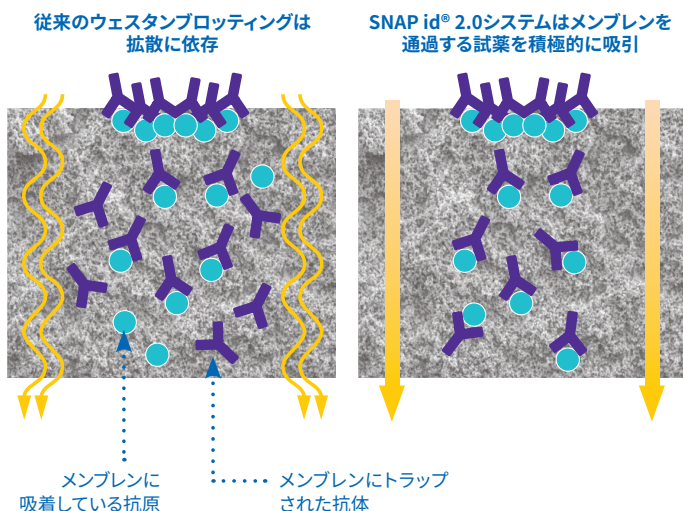
製品名	カタログ番号
mPAGE® Mini Wet Transfer System	MWTS

免疫検出



SNAP id® 2.0タンパク質検出システム

主に拡散によって試薬を輸送する従来のウェスタンブロッティングとは異なり、SNAP id® 2.0 システムでは、吸引力を利用してメンブレンを通る試薬を積極的に移動させます。この革新的な技術は、抗原の結合を促進することに加え、洗浄ステップの効率も向上させることで、ウェスタンブロッティングの条件をさらに最適化することができます。



SNAP id® 2.0システムはどのようにバックグラウンドを低減するのか？

従来の免疫検出では、プロットへの試薬の出入りがゆっくりとした拡散に依存しているため、インキュベーション時間が長く、バックグラウンドが高くなる可能性があります。SNAP id® 2.0 システムは、メンブレンを通るワーキングソリューションを積極的に吸引することで、抗体を標的抗原と最大限に相互作用させるとともに、ブロッキングと洗浄の効率を高めることで非特異的結合を低減します。

SNAP id® 2.0システムはどのように機能するのか？

吸引力を利用した SNAP id® 2.0 システムは、3 次元的な試薬の分布を最大限に利用し、数時間かかっていた免疫検出を数分単位まで短縮します。このシステムでは、次のようなメカニズムを利用しています。

1. このシステムでは、吸引ろ過を利用して局所的に抗体濃度を上昇させることで、抗体 - 抗原間の結合反応を促進し、インキュベーション時間を短縮しています。
2. 吸引によって残留している未結合の抗体をメンブレンから吸い出すことで、バックグラウンドシグナルにつながる非特異的結合を減らしています。

主な利点

- より早く結果を入手可能
- 抗体の最適化にかかる時間を短縮
- 日常的なウェスタンブロットのスループットを向上

主な特長

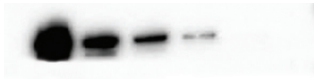
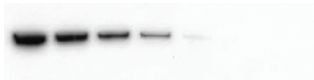
- 抗体 - 抗原結合の増加
- バックグラウンドを低くする優れた洗浄機能
- 溶液を回収・再利用することで抗体を節約



ウェスタンブロッティングのワークフローにおけるSNAP id® 2.0システム わずか30分で免疫検出!

	ブロッキング	1次抗体の添加と インキュベーション	洗浄	2次抗体の添加と インキュベーション	洗浄	合計
従来の免疫検出	～1時間	1時間以上～1晩	～15分	> 1時間	～15分	4～20 時間
SNAP id® 2.0	20秒	10分	3分	10分	3分	≤30分

SNAP id®による解析

20 10 5 2.5 1.2		抗ハンチンチンタンパク質 (カタログ番号:MAB2166) 抗体を1:400希釈し、ラット脳ライセート (20～1.2 μg) のハンチンチンタンパク質を検出しました。 タンパク質の検出には、Immobilon® Forte HRP検出試薬を使用しました。 X線フィルムへのプロットの露光時間は20秒～30分としました。
20 10 5 2.5 1.2		抗代謝型グルタミン酸受容体5 (カタログ番号:AB5675) 抗体を1:200希釈し、ラット脳ライセート (20～1.2 μg) の代謝型グルタミン酸受容体5を検出しました。 タンパク質の検出には、Immobilon® Forte HRP検出試薬を使用しました。 X線フィルムへのプロットの露光時間は20秒～30分としました。
12 6 3 1.5 0.7		抗erbB2 (細胞内ドメイン) (カタログ番号:04-291) 抗体を1:200希釈し、A431細胞ライセート (12～0.7 μg) のerbB2を検出しました。 タンパク質の検出には、Immobilon® Forte HRP検出試薬を使用しました。 X線フィルムへのプロットの露光時間は20秒～30分としました。
30 20 10 5 2.5 1.25 0.6		抗Pyk2 (カタログ番号:06-559) 抗体を1:200希釈し、ラット脳ライセート (30～0.6 μg) のPyk2タンパク質を検出しました。 タンパク質の検出には、Immobilon® Forte HRP検出試薬を使用しました。 X線フィルムへのプロットの露光時間は20秒～30分としました。

ご注文情報

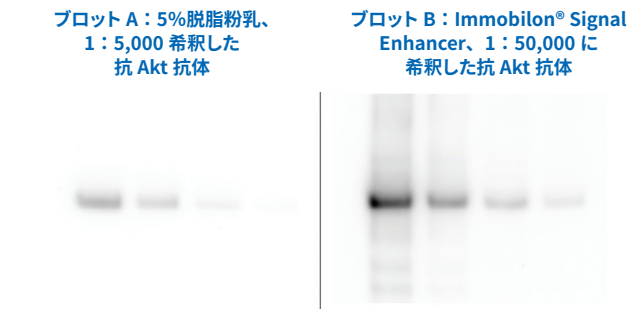
製品名	形状/入数	カタログ番号
SNAP id® 2.0 Systems	Mini x 2 (7.5 x 8.4 cm)	SNAP2MINI
	Midi x 2 (8.5 x 13.5 cm)	SNAP2MIDI
	MultiBlot x 2 (4.5 x 8.4 cm)	SNAP2MB3
	Mini and Midi (7.5 x 8.4 cm and 8.5 x 13.5 cm)	SNAP2MM
	Mini and MultiBlot (7.5 x 8.4 cm and 4.5 x 8.4 cm)	SNAP2MB1
	Midi and MultiBlot (8.5 x 13.5 cm and 4.5 x 8.4 cm)	SNAP2MB2
SNAP id® 2.0 Consumables	Mini Blot Holders (7.5 x 8.4 cm) 100/pk	SNAP2BHMD0100
	Midi Blot Holders (8.5 x 13.5 cm) 100/pk	SNAP2BHMD0100
	MultiBlot Holders (4.5 x 8.4 cm) 50/pk	SNAP2BHMB050
SNAP id® 2.0 Accessories	Antibody Collection Tray 20/pk	SNAPABTR
	Blot Roller 1/pk	SNAP2RL
	Mini Blot Holding Frame (single pack) 1/pk	SNAP2FRMN01
	Midi Blot Holding Frame (single pack) 1/pk	SNAP2FRMD01
	MultiBlot Frame (single pack) 1/pk	SNAP2FRMB01

Immobilon® Signal Enhancer

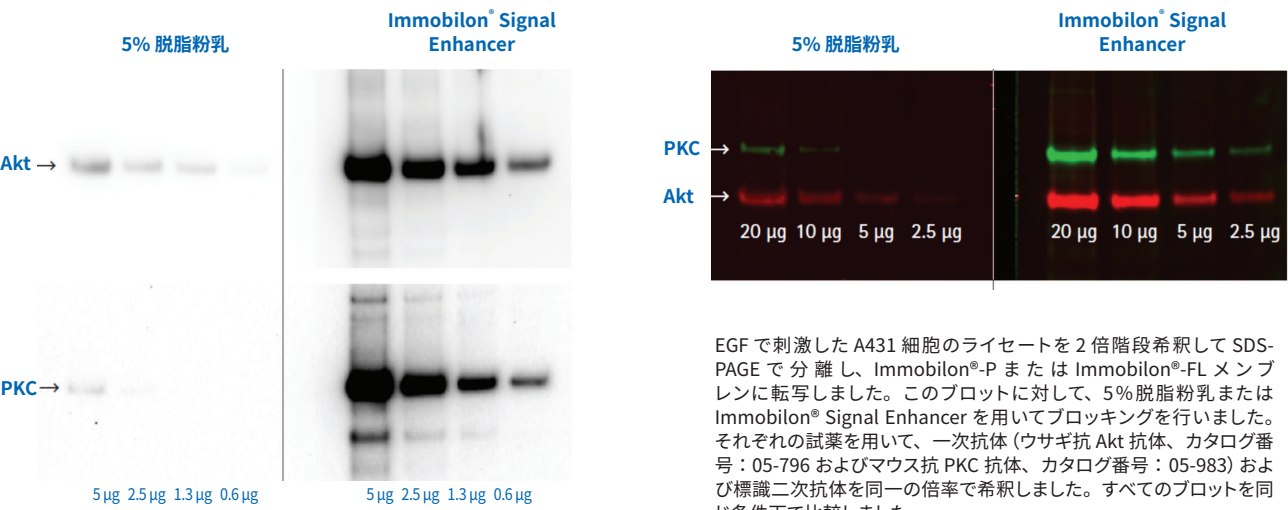
Immobilon® Signal Enhancer は、これ 1 つでシグナル増幅とブロッキングを同時に行える調製不要の新しい試薬です。

シグナルを増強：ウェスタンブロットにおいて、ノイズを上げることなく弱いシグナルを増幅します

一次抗体を節約：Immobilon® Signal Enhancer を使うことで、貴重な一次抗体の使用量を減らすことができます



シグナルをより強く。抗体をより少なく。プロット A：TBST で作製した 5%脱脂粉乳を使用して、ブロッキングおよび抗体希釈を行いました。抗 Akt 抗体は 1：5,000 で希釈しました。プロット B：Immobilon® Signal Enhancer を使用して、ブロッキングおよび抗体希釈を行いました。一次抗体を 1：50,000 の希釈倍率で使用できるようになり、使用量が 10 分の 1 に削減されました。



EGF で刺激した A431 細胞のライセートを 2 倍階段希釈して SDS-PAGE で分離し、Immobilon®-P または Immobilon®-FL メンブレンに転写しました。このプロットに対して、5%脱脂粉乳または Immobilon® Signal Enhancer を用いてブロッキングを行いました。それぞれの試薬を用いて、一次抗体（ウサギ抗 Akt 抗体、カタログ番号：05-796 およびマウス抗 PKC 抗体、カタログ番号：05-983）および標識二次抗体を同一の倍率で希釈しました。すべてのプロットを同じ条件下で比較しました。

ご注文情報

製品名	容量	カタログ番号
Immobilon® Signal Enhancer for Immunodetection	500 mL	WBSH0500
	100 mL (trial size)	WBSH0500-100ML

Immobilon® Blockノイズキャンセリング試薬

ウェスタンブロットティングでは、高いバックグラウンドをもたらす非特異的な抗体結合を防ぐために、メンブレン上でタンパク質が結合していない部位をブロッキングする必要があります。昔から使われている脱脂粉乳やその他のタンパク質ブロッキング剤は、粘性のあるタンパク質の厚い層となって残ることがあり、次のような問題が生じる場合があります：

- シグナルをマスクしてしまうことで、感度や検出力が低下します。
- 脱脂粉乳中にはリン酸化タンパク質が存在するため、タンパク質リン酸化の検出には対応できません。

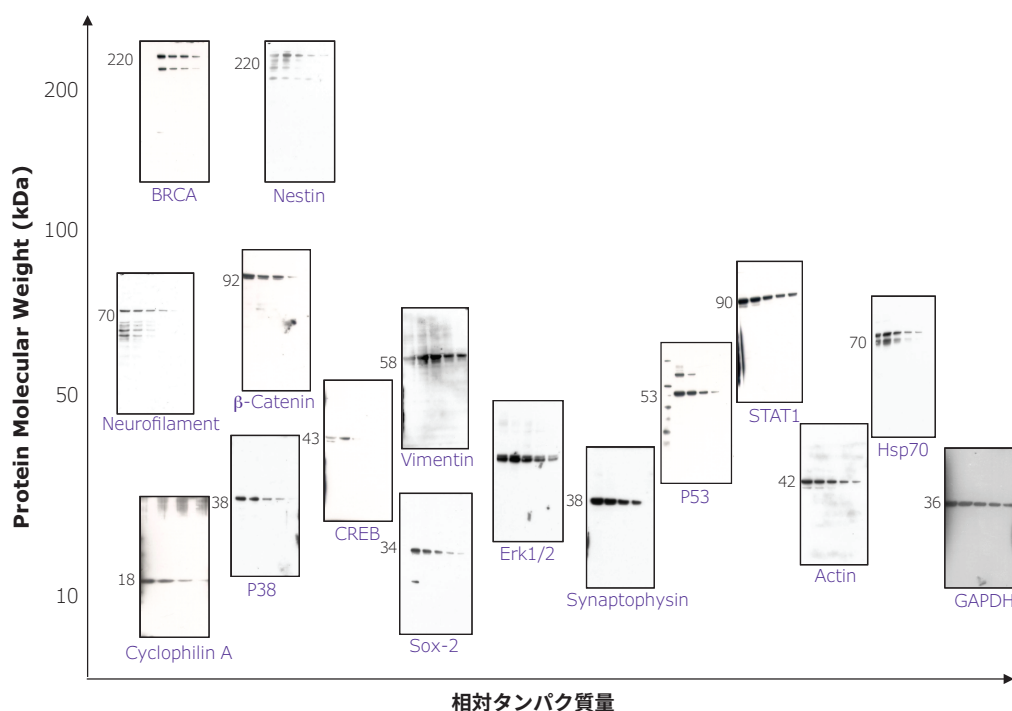
Immobilon® Block試薬は：

- バックグラウンドを低減し、タンパク質の検出力を向上
- Coomassie 染色のために 2 枚目のゲルの泳動が不必要
- 室温で 2 年間安定
- 調製済みですぐに使用でき、混合は不要

Coomassie染色のためだけに電気泳動をする必要はありません

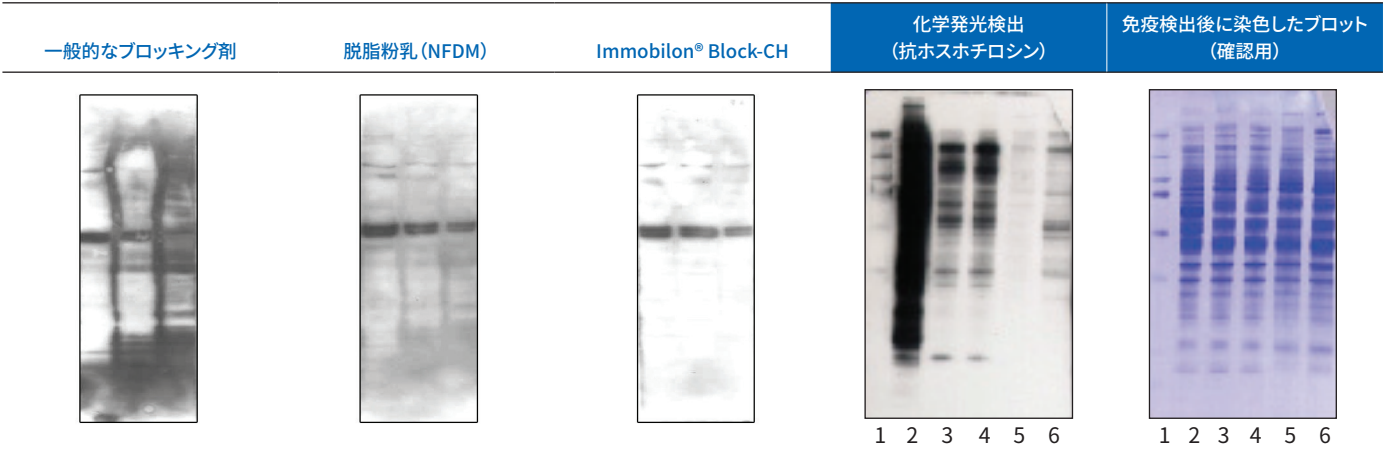
Immobilon® Block ノイズキャンセリング試薬と Immobilon®-PVDF メンブレンを組み合わせれば、免疫検出後にメンブレンを染色することが可能です。

Immobilon® Block試薬は、様々な抗体やライセートとの組み合わせで良好なシグナルを得ることができます



一次抗体および二次抗体をすべてImmobilon® Block-CHで希釈しました

Immobilon® Block-CHノイズキャンセリング試薬



Immobilon® Block試薬のシグナル-ノイズ比は、NFDМや一般的なブロッキング試薬よりも優れています。EGFで刺激したA431細胞のライセート(10~2.5 µg/レーン)において、p53を化学発光により検出しました。ブロッキングおよび抗体反応のステップには、表記のブロッキング試薬を使用しました。

Immobilon® Block試薬を使用した場合は、免疫検出後にCoomassieブルー染色を行うことができます。A431細胞ライセートの新鮮サンプル(レーン2~4)および古いサンプル(レーン5~6)を用いて、レーンあたりの総タンパク質量を10 µgに調整し、プロットを行いました。Immobilon® Block-CH試薬を用いてプロットのブロッキングを行い、抗ホスホチロシン抗体(クローン4G10)でプロットした後、化学発光によって検出を行いました(左パネル)。レーン5および6のシグナルは、レーン3および4よりも有意に低くなりました。免疫検出直後のCoomassieブルー染色により、ローディングおよび転写にエラーがあった可能性は排除されました。

ご注文情報

製品名	容量	カタログ番号
Immobilon® Block-CH Reagent, Chemiluminescence Detection	500 mL	WBAVDCH01
	100 mL (trial size)	WBAVDCH01-100ML

注目の技術

Immobilon® Block-POノイズキャンセリング試薬

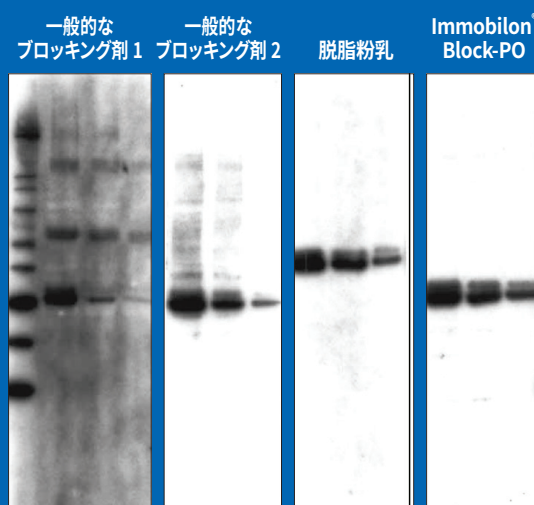
バックグラウンドを減らして意義のある結果を得るには、プロット上において非特異的にタンパク質が結合してしまう部位をブロッキングすることが不可欠です。脱脂粉乳はもっともよく使用されているブロッキング剤ですが、リン酸化された哺乳類タンパク質が存在するため、バックグラウンドが非常に高くなる可能性があります。そのため、リン酸化タンパク質のイムノブロットングには、非タンパク質ベースのブロッキング剤が適しています。

Immobilon® Block-PO試薬はどのように結果を向上するのか？

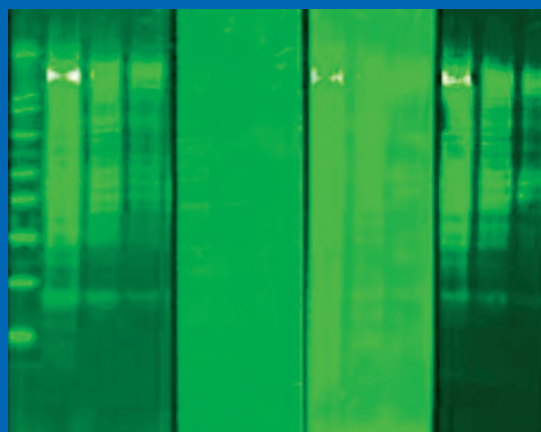
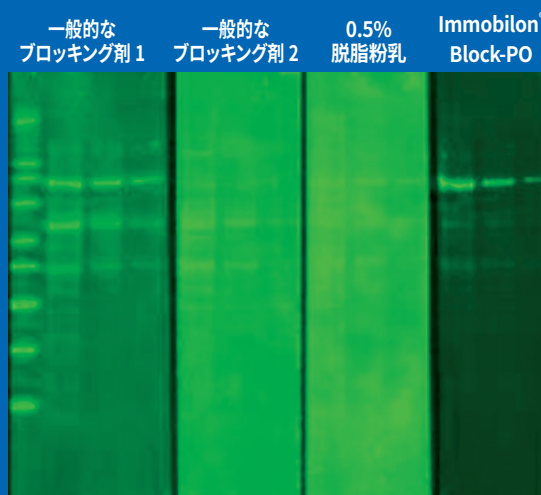
このケミカルベースのブロッキング剤にはホスファターゼ阻害剤が含まれており、プロットされたタンパク質のリン酸化状態を保持します。

主な利点

- ・タンパク質フリーであるため、バックグラウンドが低下し、検出力が向上
- ・リン酸化部位をインタクトに保つホスファターゼ阻害剤を含有
- ・Coomassie 染色のために 2 枚目のゲルの泳動が不必要
- ・室温で 1 年間安定
- ・すぐに使用できる形で提供



EGF で刺激した A431 細胞ライセート (階段希釈により 10 ~ 2.5 µg/ レーンに調製、カタログ番号: 12-110) における pERK の化学発光検出。プロットを表記の試薬 (上記) でブロッキングし、それぞれのブロッキング剤で希釈した抗 pERK 抗体 (1 : 10,000、カタログ番号: 05-797R) によってプローブしました。バンドの検出には、Immobilon® Forte Western HRP 基質 (カタログ番号: WBLUF0500) を使用しました。



Immobilon® Block-PO試薬はリン酸化タンパク質の検出に最適

蛍光検出: EGF で刺激した A431 細胞のライセートを階段希釈し (20 ~ 2.5 µg/ レーン、カタログ番号: 12-110)、SDS-PAGE で分離した後、Immobilon®-FL メンブレンに転写しました。プロットをブロッキングし、それぞれのブロッキング剤で希釈した抗ホスホセリン抗体 (クローン 4A4、1 : 400、カタログ番号: 05-1000) (上パネル) または抗ホスホチロシン抗体 (クローン 4G10、1 : 400、カタログ番号: 05-321) (下パネル) でプローブした後、さらに IRDye800 標識抗マウス IgG 抗体 (1 : 1,000、カタログ番号: 926-32210、LI-COR) を反応させました。真空下で 1 時間乾燥させた後、Odyssey スキャナー (LI-COR) でプロットをスキャンしました。

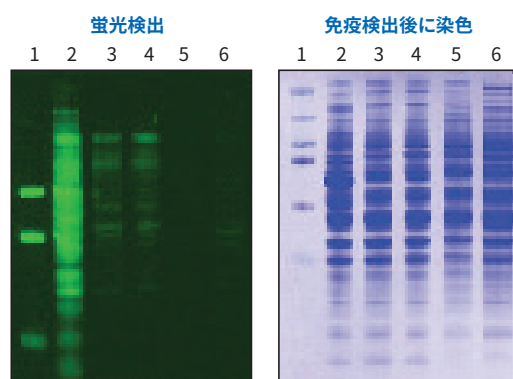
ご注文情報

製品名	容量	カタログ番号
Immobilon® Block-PO Reagent, Phosphoprotein Detection	500 mL	WBAVDP001
	100 mL (trial size)	WBAVDP001-100ML

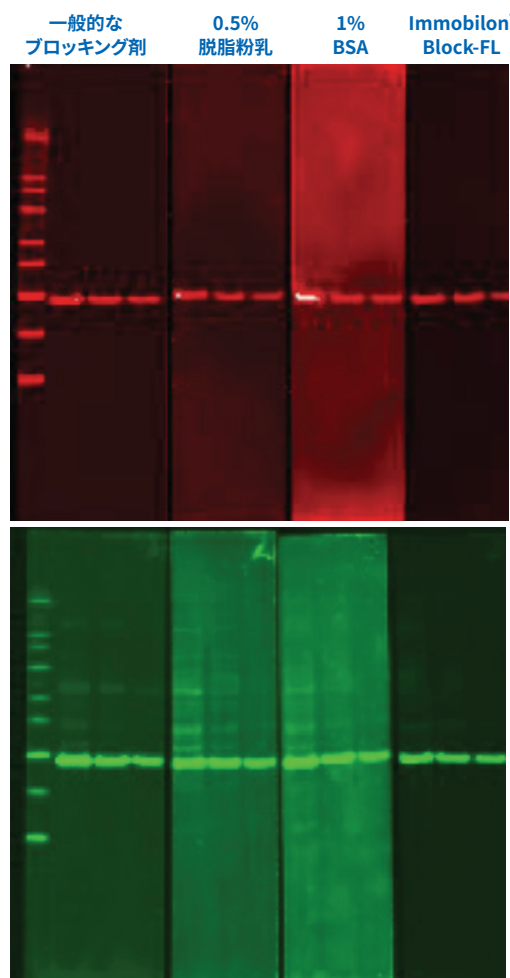
Immobilon® Block-FL ノイズキャンセリング試薬

主な利点

- 蛍光ウェスタンのバックグラウンドを低減するための特別な仕様
- ボトルからすぐに使用できる形で提供
- 室温で2年間安定
- 免疫検出後のプロットを発色染色に使用可能



A431 細胞ライセートの新鮮サンプル（レーン2～4）および古いサンプル（レーン5～6）を用いて、レーンあたりの総タンパク質量を10 µgに調整し、プロットを行いました。Immobilon® Block-FL 試薬を用いてプロットのブロッキングを行い、抗ホスホチロシン抗体（クローン4G10）でプローブした後、蛍光による検出を行いました。両検出法において、レーン5および6のシグナルは、レーン3および4よりも有意に低くなりました。免疫検出直後の Coomassie ブルー染色により、ローディングおよび転写にエラーがあった可能性は排除されました。



Immobilon® Block-FL 試薬はシグナル - ノイズ比を向上させ、蛍光ウェスタンプロットの結果を最適化します。EGF で刺激した A431 細胞のライセートを階段希釈して (2～0.5 µg/レーン、ライセート、カタログ番号：12-110) 2 枚の Immobilon®-FL にプロットし、表記のブロッキング剤を用いてブロッキングを行った後、同ブロッキング剤で希釈した抗 GAPDH 抗体（上パネル）（1：10,000、カタログ番号：MAB374）または抗アクチン抗体（下パネル）（1：2,000、カタログ番号：MAB1501）でプローブしました。さらに IRDye680（上パネル）または IRDye800（下パネル）標識抗マウス IgG 二次抗体でプローブし、真空下で1時間乾燥させた後、Odyssey スキャナー (LI-COR) でプロットをスキャンしました。

ご注文情報

製品名	容量	カタログ番号
Immobilon® Block-FL Reagent, Fluorescence Detection	500 mL	WBAVDFL01
	100 mL (trial size)	WBAVDFL01-100ML

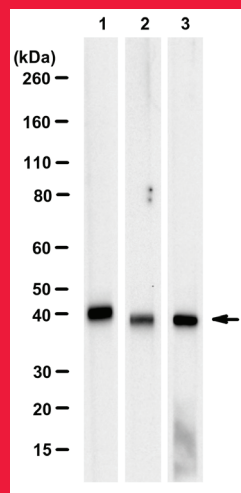
注目の技術

ZooMAb®抗体

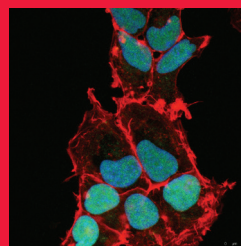
ZooMAb® 抗体は、まったく新しい次世代のリコンビナント・モノクローナル抗体です。ZooMAb® 抗体は、最先端の一貫性とアプリケーションの性能に加えて、最もユーザーフレンドリーな組成、取り扱い、保存を可能にした独自の技術を用いて特別に開発されています。たくさんの引用実績を持つ研究用抗体を昔から提供し続けてきた弊社は、このリコンビナント・モノクローナル抗体における次世代の革命的な技術をお客様に届けられることを大変うれしく思います。

従来の技術とは異なり、ZooMAb® 抗体は、独自の B 細胞トランスフェクション法および組織培養ベースの方法を使用したリコンビナント発現プラットフォームによって開発されています。この技術は、「動物学」的視点においても非常に幅広い動物種においてリコンビナント・モノクローナル抗体を生産できる可能性の扉を開く技術です。ZooMAb® 抗体はまず、最も高い親和性と特異性を持つモノクローナル抗体を産生することでよく知られているウサギ由来抗体から開発していますが、これに留まることなく、将来的にはさまざまな動物種由来の抗体を開発する予定です。

新技術 ZooMAb® 抗体をさらに知りたい方は、[SigmaAldrich.com/ZooMAb](https://www.sigmaaldrich.com/ZooMAb) をご覧ください。



NIH3T3 細胞 (A) および HepG2 (B) 細胞のライセートを、抗 SOX-9 (クローン 2B10) ZooMAb® ウサギモノクローナル抗体 (カタログ番号: ZRB5535) で検出した。タンパク質は、HRP 標識ロバ抗ウサギ IgG 二次抗体および化学発光検出システムを用いて可視化した。矢印は SOX-9 (~65 kDa) を示す。



抗 Sox-2 (クローン 1A2) ZooMAb® ウサギモノクローナル抗体 (カタログ番号: ZRB5603) を用いた免疫蛍光染色。

これらの ZooMAb® 抗体は、従来の抗体と同等の推奨希釈倍率において、ウェスタンブロットおよび少なくとも他 2 つの主要なアプリケーションについてバリデーション済みです。

Sigma-Aldrich®

Lab & Production Materials

ウェスタンブロッティング用のローディングコントロール抗体

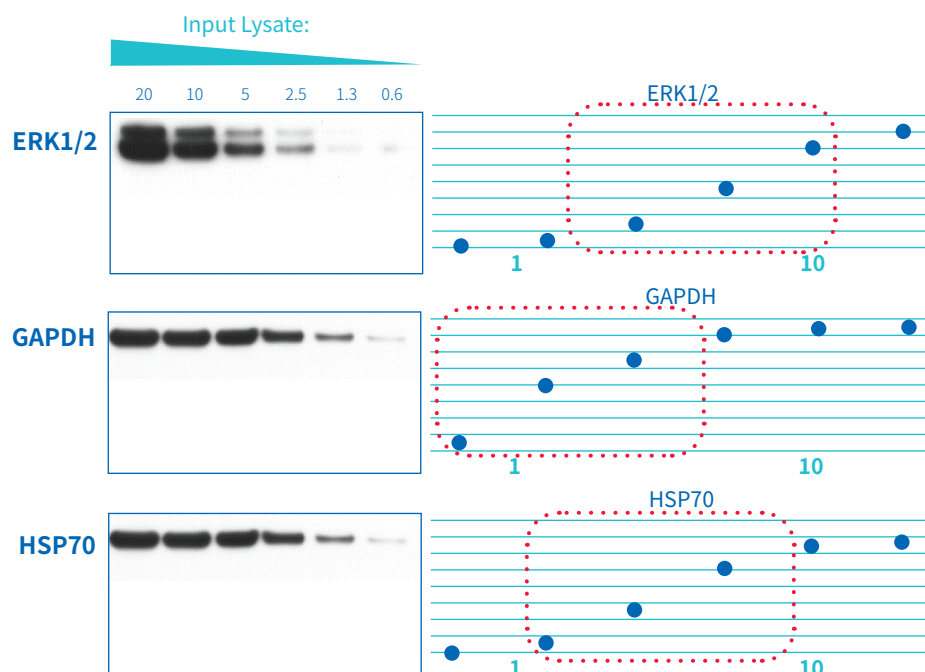
ウェスタンブロットのサンプルにおいて量が豊富かつ一定のレベルで存在しているタンパク質を使うことで、技術的なばらつきをコントロールすることができます。これらのいわゆるローディングコントロールは、ウェスタンブロット実験で観察されるシグナルの違いが、タンパク質の発現変化によるものであり、サンプルのローディングや転写、その他のワークフローのステップで生じた人為的なノイズによるものではないことを確認するために不可欠です。

数種類の主要な「ハウスキーピング」タンパク質を、デフォルトのローディングコントロールとして使用する場合もありますが、標的タンパク質の特性やウェスタンブロットの実験条件も考慮することが重要です。

ローディングコントロールのタンパク質に対する抗体を選択する際には、次のような点を考慮する必要があります。

- 解析を行うサンプルに、ローディングコントロールタンパク質が安定して発現しているか
- バンドが標的タンパク質のものと区別できる程度に分子量が異なっているか
- ゲルの各レーンにロードするライセート量において、シグナルに線形性があるか
- 抗体がウェスタンブロットでの使用についてバリデーションされているか

使用するローディングコントロールを検討するためのシグナルの線形性評価



同一のサンプルを用いて ERK1/2、GAPDH、および HSP70 のウェスタンブロットを実施した結果、各タンパク質量が線形性を示す範囲が認められました。ライセートは A431 細胞由来 (カタログ番号: 12-110)。(x-GAPDH、カタログ番号: MAB374; x-HSP70、SAB4200714; x-Erk1/2、06-182) (ECL 試薬、Immobilon® Classico Western HRP 基質、カタログ番号: WBLUC0500)。

ローディングコントロール抗体

ローディングコントロール抗体	交差性	宿主	抗原の分子量	カタログ番号
Anti-Vinculin, Clone V284	Hu, Ms, Rt, Rb, Ch	Ms	124 kDa	05-386
Anti-Vinculin, Clone hVIN-1	Hu, Ms, Rt, Ca, Ch, Bv, Tk, Fg	Ms	116 kDa	V9131
Anti-HSP90, Clone D7a	Hu, Ms, Rt, Rb, Bv, Ch, Po	Ms	90 kDa	05-594
Anti-HSP90, Clone 803CT9	Hu, Ms	Ms	85 kDa	SAB1305541
Anti-HSP70, Clone C92F3-5	A broad range of species	Ms	70 kDa	386032
Anti-HSP70, Clone BRM-22	A broad range of species	Ms	70 kDa	SAB4200714
Anti-Lamin B1, Clone 8F10.1	Hu, Rt	Ms	66 kDa	MABS492
Anti-Lamin B1, polyclonal	Hu	Rb	66 kDa	SAB1306342
Anti-HDAC1, Clone 2E10	Hu, Ms	Ms	55 kDa	05-100-I
Anti-HDAC1, polyclonal	Hu, Ms	Rb	65 kDa	H3284
Anti-GAPDH	H, M, Rt, B, Gp	Rb	36 kDa	ABS16
anti-GAPDH, polyclonal	Rb, Sh, Gp, Rt, Ms, Ca, Eq, Gt, Bv	Rb	36 kDa	SAB2108668
Anti-Actin, Smooth Muscle, Clone ASM-1/1A4	Hu, Ms, Rt, Ch, Bv	Ms	45 kDa	CBL171-I
Anti-Actin, Clone JLA20	Hu, Ch	Ms	42 kDa	MABT219
Anti-Actin, polyclonal	A wide range of organisms	Rb	42 kDa	A2066
Anti-Actin, polyclonal	plant	Rb	42 kDa	SAB4301137
Anti-Tubulin, Beta III, Clone 2G10	Hu, Ms, Rt, Bv	Ms	50 kDa	05-559
Anti-Cyclophilin B, polyclonal	Hu, Ms, Rt, Mk	Rb	20 kDa	SAB4200201
Anti-Cofilin, polyclonal	Hu, Rt	Rb	21 kDa	07-300
Anti-COX IV, polyclonal	Hu	Rb	17 kDa	AB10526
Anti-Cox IV-2 (COX42), polyclonal	Hu, Rt, Ms	Rb	20 kDa	SAB4503384
Anti-Histone H3, Clone 6.6.2	A wide range of organisms	Ms	17 kDa	05-499
Anti-Histone H3, polyclonal	Hu, Rt, Ms, Ch, Dr, Xe, plant	Rb	17 kDa	H0164
Anti-VDAC1, Clone N152B/23	Hu, Rt, Ms, Bv, Eq, RhM, Chp, Po	Rb	33 kDa	AB10527
Anti-VDAC1	Rt, Ms, Eq, Bv, Rb, Sh, Ca, Gp, Zbf	Rb	31 kDa	SAB2108496
Anti-PCNA, polyclonal	Hu, Ms, Rt, Chp	Rb	35 kDa	07-2162

検出



ウェスタンブロットリング用の化学発光基質

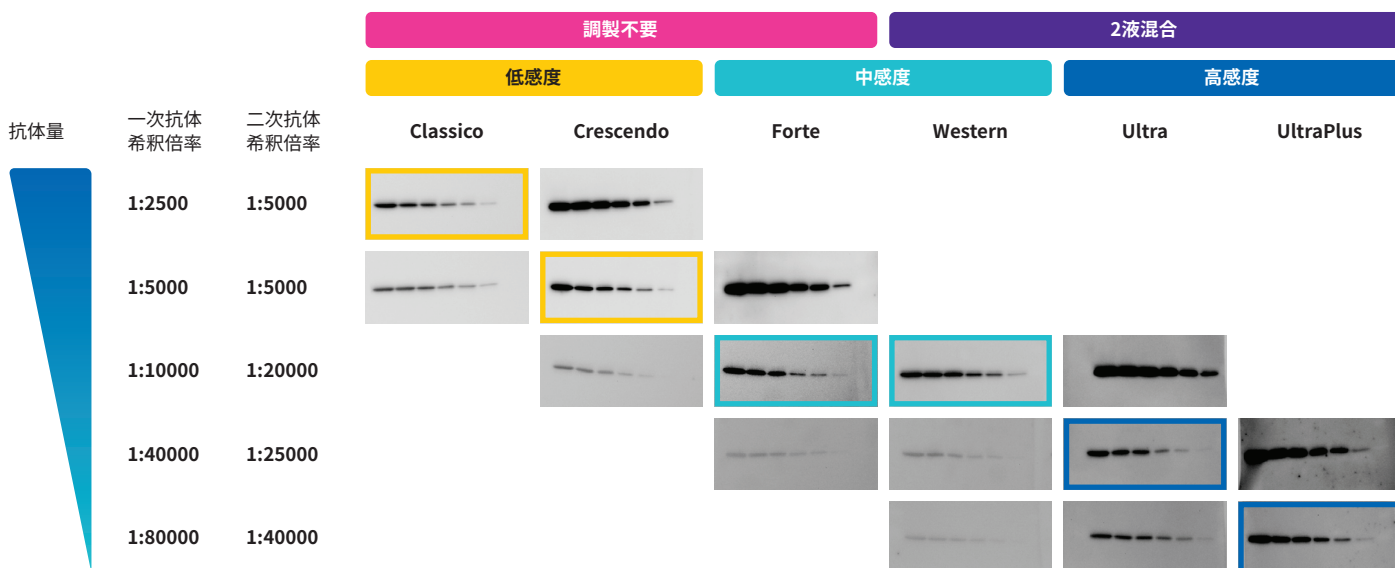
メルクでは、幅広い ECL (enhanced chemiluminescence) 基質を取り揃えており、あらゆるアプリケーションに対応可能です。

ペルオキシダーゼをベースとした検出のためのプレミックス試薬の製品シリーズである Immobilon® Classico、Crescendo、および Forte 基質は、他の ECL 試薬に比べて次のような点で優れています。

- 単一コンポーネントの調製済み試薬であるため、検出操作が簡単で、高い再現性と利便性を提供します
- 感度範囲が広いため、さまざまな標的タンパク質濃度において最適なシグナル - バックグラウンド比を実現します

標準的な 2-コンポーネントのフォーマットで提供される Immobilon® ECL Ultra および Western HRP Substrate は、感度が非常に高く、シグナル寿命が長いという特長があります。また、これらの製品を用いることで、イムノブロット検出に使用する 1 次抗体の濃度を下げることができます。最新製品の Immobilon® ECL Ultra Plus Substrate は、数フェモトグラムオーダーの感度を持っていることに加え、同クラスの他の基質よりもシグナル持続時間が長くなっています。

Immobilon®化学発光HRP基質の相対的な感度



タンパク質 4 µg から開始した A431 細胞ライセート (12-110) の 2 倍段階希釈シリーズを MOPS バッファー (MPM0PS) を用いて 10% mPAGE® ゲル (MP10W15) で 200 V で 25 分間泳動した。タンパク質を、mPAGE® 転写バッファー (MPTRB) と 10% エタノールを用いて Immobilon®-P メンブレン (IPVH00010) に 1 時間転写した。ウサギ抗 HH3 (H0164) および ヤギ抗 ウサギ (AP132P) 抗体を用いて、上記の希釈で HH3 タンパク質 (15 kDa) の免疫検出を行った。プロットを上記の ECL 試薬とともに 5 分間インキュベートし、Bio-Rad ChemiDoc™ システムの 30 秒の露光で画像を撮影した。

ChemiDoc™ は Bio-Rad Laboratories, Inc. の登録商標です。

Immobilon® Western HRP基質

	Classico	Crescendo	Forte	Western	Ultra	UltraPlus
保存	要冷蔵 (4°C)	要冷蔵 (4°C)	卓上 (25°C)	要冷蔵 (4°C)	要冷蔵 (4°C)	卓上 (25°C)
フォーマット	すぐに使用可能	すぐに使用可能	すぐに使用可能	2コンポーネント	2コンポーネント	2コンポーネント
メンブレン適合性	ニトロセルロース、PVDF	ニトロセルロース、PVDF	ニトロセルロース、PVDF	ニトロセルロース、PVDF	ニトロセルロース、PVDF	ニトロセルロース、PVDF
通常のシグナル持続時間*	1時間	1時間	1時間	1時間	3時間	3時間
選択基準	- 豊富なタンパク質および抗体 - 少数のサンプル	- 豊富なタンパク質または抗体 - 少数のサンプル	中程度に豊富なタンパク質および抗体	中程度に豊富なタンパク質および抗体	- 低濃度のタンパク質または限られた抗体 - 多数のサンプル	- 低濃度のタンパク質および限られた抗体 - 多数のサンプル
同等の感度を持つ試薬	- Pierce ECL - Amersham ECL Reagent	- Pierce ECL Plus - Amersham ECL Reagent	- SuperSignal West Pico PLUS - Amersham ECL Prime - Clarity Reagent	- SuperSignal West Pico PLUS - Amersham ECL Prime - Clarity Reagent	- SuperSignal West Femto - Amersham ECL Select - Clarity Max Reagent	SuperSignal West Atto

*デジタルイメージャーを使用

Immobilon® UltraPlus Western Blot HRP Substrate

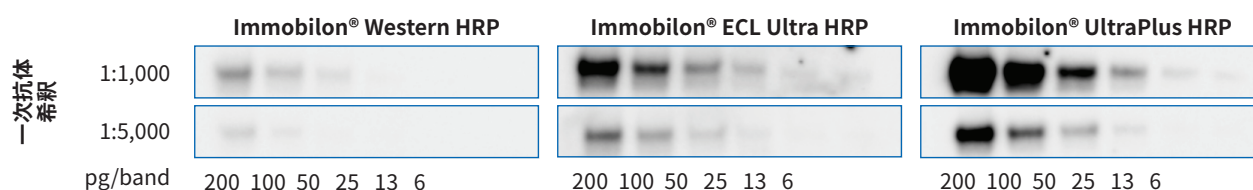
お客様の貴重なタンパク質のための優れた感度

これまで検出できなかったバンドを可視化するために
Immobilon® UltraPlusをご使用ください

Immobilon® UltraPlus Western HRP Substrate は、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) と結合させた固定化タンパク質を検出するための、2液タイプの高安定性化学発光基質です。Immobilon® UltraPlus 基質には、感度が非常に高く、シグナル寿命が長いという特長があります。この製品を用いることで、イムノブロット検出に使用する1次抗体の濃度を下げることができます。この製品は、数フェモトグラムオーダーという、メルクで最高の感度が得られる検出基質です。



高感度のImmobilon® UltraPlus基質を用いることで抗体量を削減

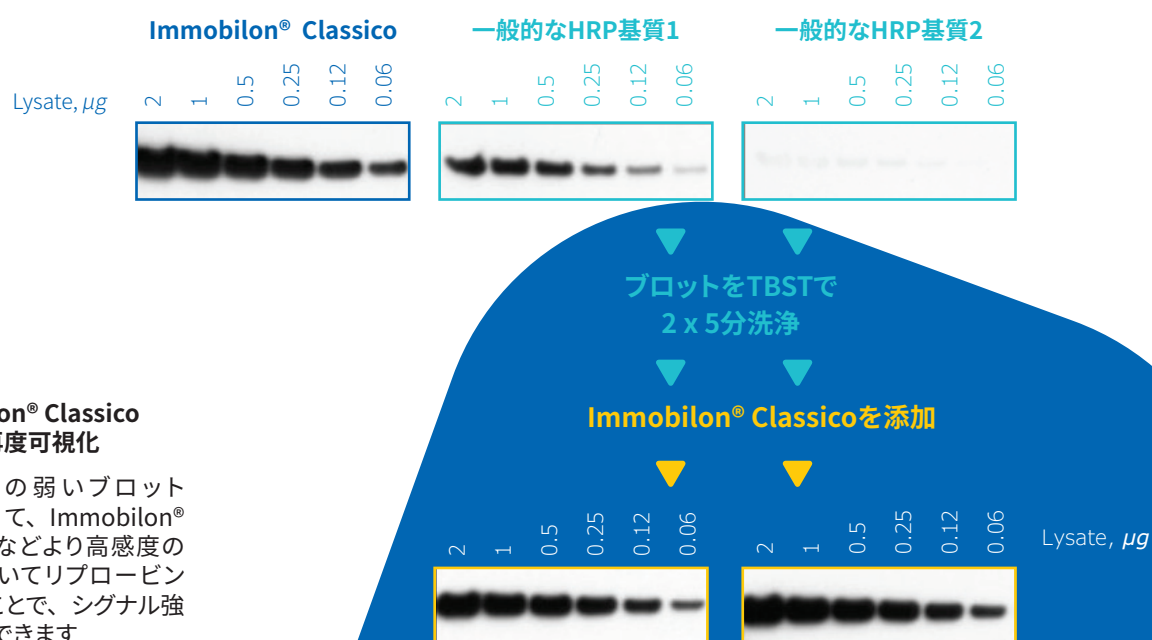


SDS-PAGEで分離しImmobilon®-Pメンブレンに転写した組換えヒトIKBアルファタンパク質の2倍希釈シリーズの検出。プロットを0.5% 脱脂粉乳でブロッキングし、希釈したウサギ抗IKBアルファ (1:1,000または1:5,000) とともにインキュベートした後、希釈したヤギ抗ウサギIgG HRPとともにインキュベートした。プロットを、上記の化学発光基質とともにインキュベートした。

いつもお使いのHRP基質の後に Immobilon®の基質をお試しください

市販されている別の HRP 基質を使用した後に、同じブロットに対して Immobilon® の基質を使ってみました。その結果、Immobilon® 単独で検出を行った場合でも、バンド強度に有意な差は見られませんでした。ぜひ、お試しください。これまで視覚化できなかったバンドを検出できるかもしれません。

表記のHRP基質で可視化



Immobilon® Classico によって再度可視化

シグナルの弱いブロットに対して、Immobilon® Classico などより高感度の試薬を用いてリプロービングを行うことで、シグナル強度を改善できます

GAPDH の検出。 2 倍段階希釈 (2 μg ~ 0.06 μg) した A431 細胞抽出物を用いて、3 条件でウェスタンブロットを実施しました。SNAP id® システムを使用して、1:1000 希釈の抗 GAPDH 抗体 (カタログ番号: MAB374) および 1:1000 希釈の抗マウス HRP 標識二次抗体 (カタログ番号: AP124P) をプローブしました。ブロットをまず表記の HRP 基質で可視化した後、ブロット 2 および 3 を洗浄し、Immobilon® Classico 基質を使って再度可視化しました。すべてのブロットについて、X 線フィルムへの露光は 1 分間としました。

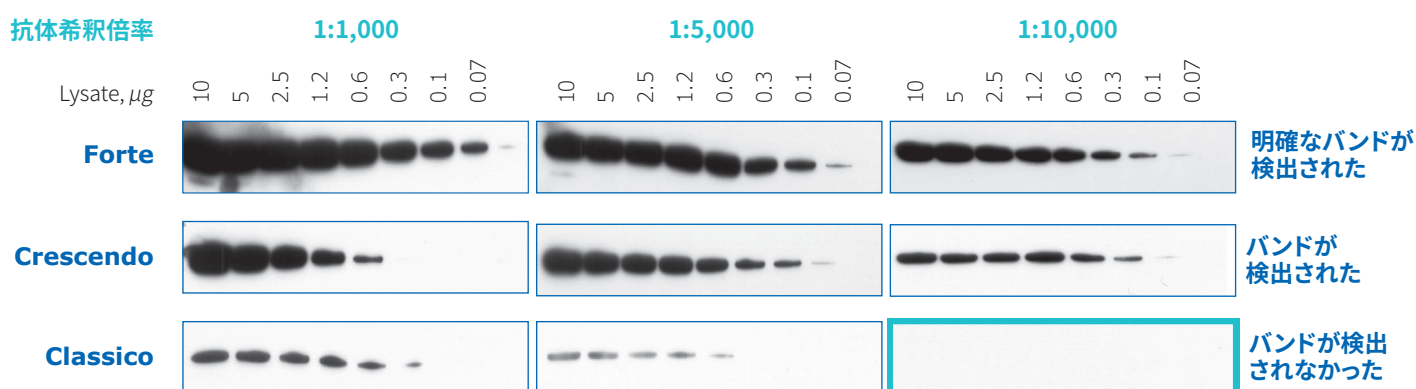
Immobilon® Western HRP Substrateを用いたウェスタンブロットの最適化

Immobilon® Classico Western HRP Substrate でバンドが検出されない場合（四角で囲ったプロット）、取るべき選択肢は次の 2 つです。

1. Immobilon® Crescendo や Forte など、より感度の高い試薬を試す
2. 抗体濃度を 1：10,000 から 1：1,000 に上げる

より高感度のHRP基質を使用することで、結果が向上することに加え、時間とコストを節約することができます：

1. **結果の向上**：検出試薬の感度を上げることでより強いバンドが得られ、プロットの定量性が向上しました（1：10,000 希釈条件の Immobilon® Crescendo および Forte にみられるバンド強度の増え方を比較してください）。
2. **時間短縮**：抗体反応を再度行うと 2.5 時間かかりますが、プロットを洗浄して新しい基質を使用すれば、たった 10 分で検出を行うことができました。
3. **コスト削減**：HRP 基質を適切に選ぶことで、抗体濃度を上げるよりもコストを下げるすることができます。



表記の量の A431 細胞ライセートを用いてイムノブロットを行いました。さまざまな濃度の抗 GAPDH 抗体（カタログ番号：MAB374）でプローブし、その後さらに対応する二次抗体でプローブを行いました。表記の Immobilon® HRP 基質を使用してバンドを可視化し、X 線フィルムに 5 分間露光しました。

ご注文情報

製品名	容量	カタログ番号
Immobilon® UltraPlus HRP Substrate	2 x 50 mL	WBULP-100ML
	2 x 10 mL	WBULP-20ML
	2 x 5 mL (trial size)	WBULP-10ML
Immobilon® ECL Ultra Western HRP Substrate	2 x 50 mL	WBULS0100
	2 x 250 mL	WBULS0500
	2 x 10 mL (trial size)	WBULS0100-20ML
Immobilon® Western Chemiluminescent HRP Substrate	2 x 50 mL	WBKLS0100
	2 x 250 mL	WBKLS0500
	2 x 25 mL (trial size)	WBKLS0050
Immobilon® Forte Western HRP Substrate	100 mL	WBLUF0100
	500 mL	WBLUF0500
	20 mL (trial size)	WBLUF0020
Immobilon® Crescendo Western HRP Substrate	100 mL	WBLUR0100
	500 mL	WBLUR0500
	20 mL (trial size)	WBLUR0020
Immobilon® Classico Western HRP Substrate	100 mL	WBLUC0100
	500 mL	WBLUC0500
	20 mL (trial size)	WBLUC0020

Re-Blot™ Plus Western Blot Recyclingキット

短時間でストリッピングを行えるこの試薬は、ウェスタンブロットを再利用する際に最適な製品です。

Re-Blot™ Plusとは何か？

Re-Blot™ Plus 試薬は、抗体結合によりプロービングされたブロットを効率的にストリッピングします。この製品は、低濃度および高濃度の抗体ストリッピング溶液として提供されます。

- **低濃度**：ニトロセルロース膜および PVDF 膜の両方で良好な結果が得られます。
- **高濃度**：強いシグナルのメンブレンに対してストリッピングを行う場合や、Re-Blot™ Plus の低濃度溶液による処理では不十分な場合に使用します。

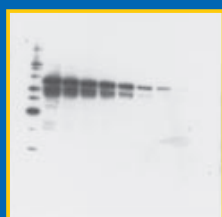
主な利点

- β -メルカプトエタノールフリーで刺激臭なし
- 室温下においてわずか 15 分でストリッピング完了
- ブロットを短時間で再利用し、複数の抗体プロービングが可能
- 非酸性のためタンパク質分解のリスクを低減（エドマン分解など）

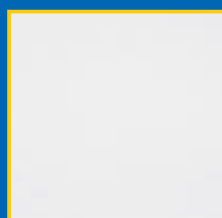
ご注文情報

製品名	容量	カタログ番号
Re-Blot™ Plus Mild Antibody Stripping Solution	10 x 50 mL	2502
Re-Blot™ Plus Strong Antibody Stripping Solution	10 x 50 mL	2504

HSP70



Stripped Blot



GAPDH



Re-Blot™試薬は効率良くブロットをストリッピングできるため、別の抗体によるリプロービングをすぐに行うことができます。

A431 細胞ライセートを 2 倍階段希釈し、SDS-PAGE で分離した後、Immobilon®-P メンブレンに転写しました。その後、SNAP id® システムを用いて、ブロットを HSP70 (1 : 8,000、カタログ番号：H5147) (上) でプローブしました。そして、Re-Blot™ Plus 高濃度溶液を使用して 15 分間ストリッピングした後 (中央)、抗 GAPDH 抗体 (1 : 8,000、カタログ番号：MAB374) でリプロービングしました (下)。

Re-Blot™試薬によって効率的なブロットのストリッピングが行われたため、両方の一次抗体に対して同じ抗マウス二次抗体を使用したにもかかわらず、GAPDH のブロットをきれいに可視化することができました。

アクセサリ



Millipore®電気泳動用パワーサプライ

メルクの電源装置は、研究に必要な再現性と期待通りの品質を提供します。いずれの装置も、電気泳動や転写に必要な汎用モデルであり、いつでも思い通りに電力の調節が可能です。

mA700 Essentialパワーサプライ

- 高い最大出力による大きな供給量
- ウェット（タンク）およびセミドライでの転写に対応
- 最大 6 ステップのプログラムを 30 個まで保存可能
- 操作中の全パラメーターをカラーディスプレイに表示
- コンパクトで積み重ね可能なデザイン



mA400 Basicパワーサプライ

- 最大でゲル 2 枚までウェット（タンク）での転写が可能
- タイマー制御および 2 ステッププログラム機能を搭載
- コンパクトなデザイン



仕様

	mA400 Basicパワーサプライ	mA700 Essentialパワーサプライ
出力範囲		
電圧	10〜300 V、1 V単位で調節可能	5〜300 V、1 V単位で調節可能
電流	10〜400 mA、1 mA単位で調節可能	1〜700 mA、1 mA単位で調節可能
出力形式	定電圧または定電流	定電圧、定電流、または定電力（自動クロスオーバーあり）
最大出力	60 W	150 W
プログラム	最大2ステップまでの1メソッド	最大6ステップのプログラムを30個まで保存
ディスプレイ	3桁LED	2.4インチカラーTFT LCD
タイマー	最大999分	持続使用:最大9,999分 プログラム:最大999分
出力端子	2セット	4セット
寸法(幅x長さx高さ)	14.0 x 19.1 x 8.4 cm	21.5 x 33.5 x 10.4 cm
重量	1 kg	2.1 kg

ご注文情報

製品名	プラグタイプ	国 [※]	カタログ番号
mA700 Essential Power Supply	NEMA 5-15P (YP12)	US, Canada	MA700-US
	CEE 7/7 (YP22)	France, Germany	MA700-EU
	Type G (YP61)	UK, Ireland	MA700-UK
	YP18	Japan	MA700-NI
	Type I (YP03)	China	MA700-ZH
mA400 Basic Power Supply	NEMA 5-15P (YP12)	US, Canada	MA400-US
	CEE 7/7 (YP22)	France, Germany	MA400-EU
	Type G (YP61)	UK, Ireland	MA400-UK
	YP18	Japan	MA400-NI
	Type I (YP03)	China	MA400-ZH

※日本国内では YP18 のプラグタイプのみ販売されます

ウェスタンブロットのトラブルシューティング

症状	考えられる原因	改善策
免疫検出		
シグナルが弱い	ブロッキング試薬が不適切	ブロッキング剤に目的のタンパク質に対する親和性があり、検出できないように覆い隠している可能性があります。別のブロッキング剤を試すか、ブロッキング剤の量や処理時間を減らしてください。
	抗体反応時間が不十分	反応時間を延長してください。
	抗体濃度が低すぎるか、抗体に活性がない	抗体溶液を何度も凍結融解したり、細菌のコンタミネーションがあったりすると、抗体の力価や活性が変化する可能性があります。抗体濃度を上げるか、新しいものを用意してください。
	検出試薬が使用期限切れ	新しい基質を使用し、適切に保管してください。使用期限の切れた基質を使うと、感度が低下する可能性があります。
	タンパク質転写の問題	タンパク質の転写を最適化します。
	発色検出におけるプロットの乾燥	発色検出システムを使用していてコントラストが悪い場合、プロットが乾燥している可能性があります。コントラストを最大限向上させるには、プロットを再度水に浸けてみてください。
	水道水による発色検出試薬の不活化	試薬の調整にはMilli-Q®水を使用してください。
	アジ化物によるHRPの阻害	ブロッキング溶液には、アジ化物を使用しないでください。
	抗原濃度が低すぎる	ブロッキングの前にゲルにロードする抗原量を増やしてください。
シグナルがみられない	抗体濃度が低すぎる	一次および二次抗体の濃度を上げてください。
	HRPの阻害	アジ化ナトリウムを含む溶液中でHRP標識抗体を使用しないでください。
	一次抗体が未変性タンパク質に対して産生されたものである	非変性ゲルでタンパク質を分離するか、変性抗原に対する抗体を使用してください。
プロットが不均一	プロットに指紋、折り目、またはピンセットの跡がついている	メンブレンを触ったり、折り曲げたりしないでください。手袋や先の尖っていないピンセットを使用してください。
バックグラウンドに斑点が入る	ブロッキング剤に凝集が生じている	0.2 μmまたは0.45 μmのMillex®シリンジフィルターでブロッキング剤溶液をろ過してください。
	HRP標識二次抗体に凝集が生じている	0.2 μmまたは0.45 μmのMillex®シリンジフィルターで二次抗体溶液をろ過してください。
バックグラウンドが高い	洗浄が不十分	洗浄液の量と洗浄時間を増やしてください。Millex®シリンジフィルターまたはSteriflip®フィルターユニットを使用して、転写バッファーを含むすべての溶液を事前にろ過してください。
	二次（酵素標識）抗体濃度が高すぎる	抗体の希釈倍率を上げてください。
	タンパク質間相互作用	洗浄および検出用の溶液に界面活性剤であるTWEEN® 20 (0.05%)を使用することで、タンパク質間相互作用を最小限に抑え、シグナル-ノイズ比を上げてください。
	Immobilon®-P ⁵⁰ 転写メンブレンで免疫検出を行っている	メンブレンの表面積の大きさをカバーするために、使用しているブロッキング剤の濃度または容量を増やしてください。それでもバックグラウンドが高い場合は、洗浄バッファーにNaCl (最大で0.5 M まで) およびSDS (最大で0.2%まで) を添加し、洗浄時間を2時間に延長することで低減できる可能性があります。
	試薬の質が低い	高品質の試薬およびMilli-Q®水を使用してください。
	ブロッキング剤および抗体間の交差反応性	別のブロッキング剤を使用するか、洗浄バッファー中にTWEEN® 20を使用してください。
	フィルムへの過剰な露光	露光時間を短くしてください。
	反応プロセスにおけるメンブレンの乾燥	反応中にメンブレンを十分に覆うことができる量の溶液を使用してください。
	抗体の質が悪い	アフィニティ精製を行った高品質の抗体を使用してください。
	検出試薬の過剰な使用	露光前にプロット上の試薬を完全に除去してください。

ウェスタンブロットのトラブルシューティング

症状	考えられる原因	改善策
免疫検出		
持続的なバックグラウンドシグナル	非特異的結合	高塩洗浄を行ってください(PBSまたはTBSにNaCl 0.5%およびSDS 0.2%添加)。
バックグラウンドが高い (迅速免疫検出法)	迅速免疫検出中にメンブレンが濡れている	抗体希釈液中のTWEEN® 20濃度を減らしてください(<0.04%)。
		反応中は穏やかに攪拌してください。
		転写後はプロットをMilli-Q®水でリンスし、ゲルから持ち越される残留SDSを除去してください。検出プロトコルを開始する前には必ず、プロットを完全に乾かしてください。
	免疫検出前にメンブレンをメタノールに浸漬した	メンブレンを事前に浸漬しないでください。
	免疫検出前にメンブレンが完全に乾燥していない	手順を開始する前に、メンブレンが完全に乾燥していることを確認してください。
非特異的結合	一次抗体濃度が高すぎる	一次抗体の希釈倍率を上げてください。
	二次抗体濃度が高すぎる	二次抗体の希釈倍率を上げてください。
	抗原濃度が高すぎる	ゲルにロードするタンパク質の量を減らしてください。
フィルム上の画像の色が反転している(暗いバックグラウンドに白いバンド)	HRP標識二次抗体が多すぎる	HRP標識二次抗体の濃度を下げてください。
低分子量のタンパク質を検出できない	低分子量のタンパク質がBSAなどの大きな阻害分子によってマスクされている	カゼインまたは低分子量ポリビニルピロリドン(PVP)の使用を検討してください。
		TWEEN®やTriton X-100といった界面活性剤の量をなるべく少なくする必要があるかもしれません。
		抗体や洗浄液と過度に長く反応させることは避けてください。
蛍光検出		
バックグラウンドが全体的に高い	プロットメンブレンのバックグラウンド蛍光が高い	Immobilon®-FL PVDFプロットメンブレンを使用してください。
多重化に問題が生じる	実験計画	使用する2種類の抗体は、特異性の異なる二次抗体によって区別できるよう、異なる宿主動物種に由来するものを選ぶ必要があります。2種類の一次抗体を組み合わせる前に、別々のプロットでバンドパターンをテストし、バンドが現れる場所を確かめてください。2カラーの検出を行う場合は、交差吸着処理を行った二次抗体を使用してください。
バックグラウンドに斑点が入る	プロット表面のほこりや粒子	パウダーフリーの手袋を使用してプロットを扱い、スキャナーの表面を清掃してください。
シグナルが低い	プロットが湿っている	プロットを乾燥させることで、シグナル強度が上昇する場合があります。再度湿らせた後にプロットをスキャンすることもできます。スキャン中は、プラスチックや食品用ラップフィルムでプロットを包まないでください。
	プロットが光退色している	蛍光色素は通常、長時間にわたって安定したシグナルを発しますが、なかには容易に光退色してしまう蛍光色素もあります。光退色を防ぐために、二次抗体反応や洗浄からスキャンする準備が整うまでは、メンブレンを光から保護してください。さらにその後は、イメージングを行うプロットを暗所で保管してください。
	励起波長または吸収フィルターが間違っている	プロットのイメージングについては、色素メーカーが提供する使用説明書に従ってください。

ウェスタンブロッティングを成功に導くバッファー作製法 (保存版)

TBS 10X (濃縮Tris緩衝生理食塩水)

[Tris]: 200 mM
[NaCl]: 1,500 mM
1 Lの場合:
24 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
88 g NaCl (カタログ番号71376)
900 mLのMilli-Q®水に溶解。12 N HCl (カタログ番号H1758) でpHを7.6に調整。最終容量の1 LまでMilli-Q®水を追加。
1X溶液: 1部の10x溶液と9部のMilli-Q®水を混合し、pHを7.6に調整。

TBST (Tris緩衝生理食塩水、0.1%TWEEN® 20)

[Tris]: 20 mM
[NaCl]: 150 mM
[TWEEN® 20]: 0.1% (w/v)
1 Lの場合:
100 mL TBS 10X
900 mL Milli-Q®水
1 mL TWEEN® 20界面活性剤 (カタログ番号P9416)

4X SDS-PAGEサンプルローディングバッファー

[Tris-HCl]: 0.2 M
[DTT]: 0.4 M
[SDS]: 277 mM, 8.0% (w/v)
[プロモフェノールブルー]: 6 mM
[グリセロール]: 4.3 M
7.5 mLの場合:
1.5 mL 1 M Tris-HCl pH 6.5 (カタログ番号20-160)
3 mL 1 Mジチオトレイトール (DTT、カタログ番号43816)
0.6 gドデシル硫酸ナトリウム (SDS、カタログ番号L3771)
30 mgプロモフェノールブルー (カタログ番号B0126)
2.4 mLグリセロール (カタログ番号G5516)
Milli-Q®水で最終容量7.5 mLとする
溶液の色がオレンジ/黄色になった場合、5 M NaOH (カタログ番号S8263) を1滴加えてpHを調整
500 µLずつ分注し、-20°Cで保管

SDS-PAGE用分離ゲルキャスティングバッファー

[Tris-HCl]: 1.5 M
500 mLの場合:
118.2 g Tris-HCl (カタログ番号93363 – FW: 157.60 g/mol)
450 mLのMilli-Q®水を加え、pHを8.8に調整
Milli-Q®水を加えて最終容量500 mLとする
ろ過および脱気を行う

SDS-PAGE用濃縮ゲルキャスティングバッファー

[Tris-HCl]: 1 M
500 mLの場合:
78.8 g Tris-HCl (カタログ番号93363 – FW: 157.60 g/mol)
450 mLのMilli-Q®水を加え、pHを6.8に調整
Milli-Q®水を加えて最終容量500 mLとする
ろ過および脱気を行う

SDS-PAGE用10Xゲルランニングバッファー

[Tris]: 248 mM
[グリシン]: 1.92 M
[SDS]: 35 mM, 1% (w/v)
2 Lの場合:
60 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
288 gグリシン (カタログ番号50046)
20 gドデシル硫酸ナトリウム (SDS、カタログ番号L3771)
Milli-Q®水を加え、最終容量2 Lの溶液とする
pH調整、ろ過、脱気の必要なし
1Xに希釈してSDS-PAGEゲルの泳動に使用

10X PBS

[NaCl]: 1.37 M
[KCl]: 27 mM
[Na2HPO4]: 100 mM
[KH2PO4]: 18 mM
1 Lの場合:
80 g NaCl (カタログ番号71376)
2 g KCl (カタログ番号P9541)
17.8 g Na2HPO4・2H2O (カタログ番号71643 – FW: 177.99 g/mol)
2.45 g KH2PO4 (カタログ番号P9791 – FW: 136.09 g/mol)
Milli-Q®水900 mLを加え、pHを7.4に調整
Milli-Q®水を加えて最終容量1 Lとする

転写バッファー10X

[Tris]: 250 mM
[グリシン]: 1.9 M
[SDS]: 17 mM, 0.5% (w/v)
500 mLの場合:
15.2 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
72.1 gグリシン (カタログ番号50046)
2.5 gドデシル硫酸ナトリウム (SDS、カタログ番号L3771)
Milli-Q®水を加えて最終容量500 mLとする

転写バッファー1X

用時調整
500 mLの場合:
50 mL 10X転写バッファー
100 mLメタノール (カタログ番号494437)
Milli-Q®水を加えて最終容量500 mLとする

SDS-PAGE用Coomassie染色液

[Coomassie Blue R-250]: 3.0 mM
[メタノール]: 50% (v/v)
[酢酸]: 1.74 M, 10% (v/v)
500 mLの場合:
1.25 g Coomassie Blue R-250 (カタログ番号B7920)
225 mLメタノール (カタログ番号494437)
225 mL Milli-Q®水
50 mL氷酢酸 (カタログ番号45726)

SDS-PAGE用脱色液

[メタノール]: 30% (v/v)
[酢酸]: 1.74 M, 10% (v/v)
1 Lの場合:
300 mLメタノール (カタログ番号494437)
100 mL氷酢酸 (カタログ番号45726)
600 mL Milli-Q®水

mPAGE® MES SDSランニングバッファー

[Tris]: 50 mM
[MES]: 50 mM
[SDS]: 0.1%、3.5 mM
[EDTA]: 1 mM
1000 mLの場合:
6.06 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
9.76 g 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸 (MES)
1.0 gドデシル硫酸ナトリウム (SDS、カタログ番号L3771)
0.3 gエチレンジアミン四酢酸 (EDTA – カatalog番号03609)
Milli-Q®水900 mLに溶解し、よく混合する。Milli-Q®水を加えて最終容量1 Lとする。pH調整はしないこと。

mPAGE® MOPS SDSランニングバッファー

[Tris]: 50 mM
[MOPS]: 50 mM
[SDS]: 0.1%、3.5 mM
[EDTA]: 1 mM
1,000 mLの場合:
6.06 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
1.046 g 3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸 (MOPS、カタログ番号69947)
1.0 gドデシル硫酸ナトリウム (SDS、カタログ番号L3771)
0.3 gエチレンジアミン四酢酸 (EDTA – カatalog番号03609)
Milli-Q®水900 mLに溶解し、よく混合する。Milli-Q®水を加えて最終容量1 Lとする。pH調整はしないこと。

mPAGE® 1X転写バッファー、pH 8.2、ウェット転写用

[Tris]: 25 mM
[ピシン]: 25 mM
[メタノール]: 10%
1,000 mLの場合:
3.0 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
4.08 g N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)グリシン (ピシン、カタログ番号B8660)
100 mLメタノール (カタログ番号494437)
よく混合する。Milli-Q®水を加えて最終容量1000 mLとする。pH調整はしないこと。

mPAGE® 4X LDSサンプルバッファー

[Tris-HCl]: 424 mM
[Tris]: 564 mM
[LDS]: 8%、294 mM
[EDTA]: 2.07 mM
[グリセロール]: 40%、4.34 M
[Coomassie Blue G250]: 0.88 mM
[フェノールレッド]: 0.7 mM
10 mLの場合:
0.666 g Tris-HCl (カタログ番号93363 – FW: 157.60 g/mol)
0.682 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
0.800 gドデシル硫酸リチウム (LDS、カタログ番号L9781)
0.006 gエチレンジアミン四酢酸 (EDTA、カタログ番号03609)
3.2 mLグリセロール (カタログ番号G5516)
0.75 mL 1% Coomassie Blue G250溶液
0.25 mL 1%フェノールレッド溶液
よく混合し、Milli-Q®水を加えて最終容量10 mLとする。
2~8°Cで保管。1X溶液のpHは8.5。酸または塩基でpHを調整しないこと

mPAGE®転写バッファー (含メタノール)、pH 8.2、セミドライ転写用

[Tris]: 50 mM
[ピシン]: 50 mM
[メタノール]: 10%
500 mLの場合:
3.0 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
4.08 g N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)グリシン (ピシン、カタログ番号B8660)
50 mLメタノール (カタログ番号494437)
よく混合する。Milli-Q®水を加えて最終容量500 mLとする。pH調整はしないこと。

mPAGE®ゲル平衡化バッファー、pH 8.2、セミドライ転写用

[Tris]: 50 mM
[ピシン]: 50 mM
500 mLの場合:
3.0 g Tris塩基 (カタログ番号93362 – FW: 121.1 g/mol)
4.08 g N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)グリシン (ピシン、カタログ番号B8660)
450 mLのMilli-Q®水に溶解し、よく混合する。Milli-Q®水を加えて最終容量500 mLとする。pH調整はしないこと。

ご注文情報

タンパク質抽出&サンプル調製

製品名	カタログ番号
溶解&抽出キット	
BugBuster™ Master Mix	71456
BugBuster™ Plus Benzonase® Nuclease	70750
BugBuster™ Protein Extraction Reagent (for bacterial lysis)	70584
CellLytic™ B Cell Lysis Reagent, For bacterial cell lysis, 10x concentrate	C8740
CellLytic™ Express	C1990
CellLytic™ IB Inclusion Body Solubilization Reagent	C5236
CellLytic™ M, Cell Lysis Reagent, Suitable for Mammalian cell lysis and protein solubilization.	C2978
CellLytic™ MEM Protein Extraction Kit	CE0050
CellLytic™ MT Cell Lysis Reagent, For mammalian tissues	C3228
CellLytic™ NuCLEAR™ Extraction Kit, For mammalian tissue or cultured cells	NXTRACT
CellLytic™ PN Isolation/Extraction Kit, For plant leaves	CELLYTPN1
CellLytic™ Y Cell Lysis Reagent, For yeast cells	C4482
CellLytic™ Y Plus Kit, For enzymatic yeast cell lysis	CYP1
CHAPS hydrate, BioReagent, ≥98% (TLC)	C9426
CytoBuster Protein Extraction Reagent (for mammalian cell lysis)	71009
Laemmli Lysis-buffer, non smelling	38733
NuCLEAR™ Extraction Kit	2900
ProteoExtract® Complete Mammalian Proteome Extraction Kit	539779
ProteoExtract® Native Membrane Protein Extraction Kit	444810
ProteoExtract® Subcellular Proteome Extraction Kit	539790
ProteoExtract® Transmembrane Protein Extraction Kit	71772
RIPA Buffer	R0278
RIPA Lysis Buffer, 10X, 100 mL	20-188
YeastBuster Protein Extraction Reagent (for yeast cell lysis)	71186

タンパク質抽出&サンプル調製

製品名	カタログ番号
アフィニティ精製	
Protein A Agarose, fast flow, 10 mL	16-156
Protein A/G Mix, 10 mL	IP10-10ML
Protein G Agarose, fast flow, 10 mL	16-266
PureProteome™ Protein A Magnetic Beads, 10 mL	LSKMAGA10
PureProteome™ Protein G Magnetic Beads, 10 mL	LSKMAGG10
プロテアーゼ阻害剤	
Calbiochem® Protease Inhibitor Cocktail Set III, EDTA-Free	539134-1SET
Chymostatin, 100 mg	EI6
Leupeptin, 100 mg	EI8
Mini Roche cOmplete®	11836153001
Mini, EDTA-Free Roche cOmplete®	11836170001
Pepstatin A, 100 mg	516481
Protease Inhibitor Cocktail, for general use, lyophilized powder	P2714
ReadyShield® Protease Inhibitor Cocktail for use with fungal and yeast extracts, Non-freezing solution	P0001-5ML
ReadyShield® Protease Inhibitor Cocktail for use with mammalian cell and tissue extracts, Non-freezing solution	PIC0002-5ML
ReadyShield® Protease and Phosphatase Inhibitor Cocktail for use with mammalian cell and tissue extracts, Non-freezing solution	PPC2020-5ML
Roche cOmplete®, EDTA-Free	COEDTAF-RO
SIGMAFAST™ Protease Inhibitor Cocktail Tablets, EDTA-Free, for use in purification of Histidine-tagged proteins	S8830
SIGMAFAST™ Protease Inhibitor Tablets, For General Use	S8820
Standard Roche cOmplete®	CO-RO
ULTRA, EDTA-Free Roche cOmplete®	COUEDTAF-RO
ULTRA-Roche cOmplete®	COUL-RO
バッファー交換&濃縮	
Amicon™ Ultra – 0.5 mL Filters, 24/pk	UFC501024
Amicon™ Ultra - 2 mL Filters, 24/pk	UFC201024
Amicon™ Ultra – 4 mL Filters, 24/pk	UFC801024
Amicon™ Ultra – 15 mL Filters, 24/pk	UFC901024
D-Tube Mini (10 to 250 µL), 96-well, 7,000 NMWCO	71712-3
D-Tube Midi (50 to 800 µL), 10/pk, 7,000 NMWCO	71507-3
D-Tube Maxi (100 µL to 3 mL), 10/pk, 7,000 NMWCO	71509-3
D-Tube Mega (3 to 10 mL), 10/pk, 7,000 NMWCO	71740-3
D-Tube Mega (10 to 15 mL), 10/pk, 7,000 NMWCO	71743-4
D-Tube Mega (15 to 20 mL), 10/pk, 7,000 NMWCO	71746-3

タンパク質定量

製品名	カタログ番号
タンパク質定量キット	
Bicinchoninic Acid Kit for Protein Determination	BCA1-1KT
QuantiPro™ BCA Assay Kit, for 0.5-30 µg/ml protein	QPBCA
Total Protein Kit, Micro	TP0100-1KT
Total Protein Kit, Micro Lowry, Peterson's Modification	TP0300-1KT
Total Protein Kit, Micro-Lowry, Onishi & Barr Modification	TP0200-1KT
2-D Quant Kit, Cytiva	GE80-6483-56
タンパク質定量試薬	
Bradford Reagent, for 1-1,400 µg/ml protein	B6916
Bradford Reagent for 0.1-1.4 mg/ml protein	B6916-500ML
Bicinchoninic Acid solution	B9643-1L
Biuret reagent	B3934-110ML
Lowry Reagent	L3540-25VL

電気泳動:mPAGE®ゲルキャスティングシステム&アクセサリ

製品名	数量	カタログ番号
mPAGE®ゲルキャスティングシステム		
mPAGE® Caster, 2 pk, does not include plates or combs		GCR2
mPAGE® Casting Device Kit, 0.75 mm for hand casting mini gels with 0.75 mm thickness, includes plates and combs		MGCK-75M
mPAGE® Casting Device Kit, 1 mm for hand casting mini gels with 1.0 mm thickness, includes plates and combs		MGCK-10M
mPAGE® Casting Device Kit, 1.5 mm for hand casting mini gels with 1.5 mm thickness, includes plates and combs		MGCK-15M
mPAGE®ゲルキャストアクセサリ&補修部品		
mPAGE® Combs, 0.75 mm, 10 wells	5	C75M10W
mPAGE® Combs, 0.75 mm, 15 wells	5	C75M15W
mPAGE® Combs 1.0 mm, 10 wells	5	C1M10W
mPAGE® Combs, 1.0 mm, 15 wells	5	C1M15W
mPAGE® Combs. 1.5 mm, 10 wells	5	C15M10W
mPAGE® Combs, 1.5 mm, 15 wells	5	C15M15W
mPAGE® Mini Spacer Plates, 0.75 mm	5	MSPA75
mPAGE® Mini Spacer Plates, 1.0 mm	5	MSPA10
mPAGE® Mini Spacer Plates, 1.5 mm	5	MSPA15
mPAGE® Mini Short Plates	10	MSHRT
mPAGE® Gel Caster Base	1	GCBASE
mPAGE® Gel Caster Frame	1	GCFRM
mPAGE® Gel Caster Sealing Gaskets	5	GCSEAL
mPAGE® Gel Releasers	5	GREL5
mPAGE® Casting Plate Rack	1	CPS1

電気泳動：試薬&バッファー

製品名	カタログ番号
mPAGE® TurboMix® Bis-Trisアクリルアミドゲルキャスティング溶液	
mPAGE® TurboMix® Bis-Tris Gel Casting Kit ~10 mini gels	TMKIT-10
mPAGE® TurboMix® Bis-Tris Gel Casting Kit ~60 mini gels	TMKIT-60
mPAGE® TurboMix® Resolving Solution 216 mL	TMRES-216ML
mPAGE® TurboMix® Stacking Solution 120 mL	TMSTK-120ML
アクリルアミド/Bis-アクリルアミド溶液	
Acrylamide/Bis-acrylamide, 30% solution, BioReagent, 29:1	A3574
Acrylamide/Bis-acrylamide, 30% solution, BioReagent, 37.5:1	A3699
Acrylamide/bis-acrylamide, 40% solution, BioReagent, 19:1	A9926
Acrylamide/bis-acrylamide, 40% solution, BioReagent, 29:1	A7802
Acrylamide/bis-acrylamide, 40% solution, BioReagent, 37.5:1	A7168
アクリルアミド/Bis-アクリルアミド粉末	
Acrylamide/Bis-acrylamide, BioReagent, 19:1	A2917
Acrylamide/Bis-acrylamide, BioReagent, 29:1	A2792
Acrylamide/Bis-acrylamide, BioReagent, 37:1	A6050
Acrylamide/Bis-acrylamide, BioReagent, 41:1	A0924
Acrylamide, ≥99% (HPLC), powder	A3553
Acrylamide, ≥99%	A8887
N,N'-Methylenebis(acrylamide), 99%	146072
電気泳動用ランニングバッファーおよびローディングバッファー	
Glycine, ≥99%	G8898
Laemmli 2x Concentrate Sample Buffer	S3401
Tricine, cell culture tested, ≥99%	T5816
Tris-Glycine Buffer, 10x Concentrate	T4904
Tris-Glycine-SDS Buffer, 10x Concentrate	T7777
Tris-Tricine-SDS Buffer, 10x Concentrate	T1165
TG-SDS Buffer, 10X Powder Pack, ULTROL™ Grade	585207
Trizma™ hydrochloride solution, pH 7.5, 1 M, suitable for cell culture	T2319
Bromophenol Blue sodium salt	B8026
Trizma™ base, anhydrous, free-flowing, Redi-Dri™, ≥99.9%	RDD008
界面活性剤	
Sodium dodecyl sulfate ≥98.5%	L3771
Lithium dodecyl sulfate	L9781
ゲルキャスティング試薬	
Ammonium persulfate, for molecular biology, for electrophoresis, ≥98%	A3678
N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine, ~99%	T9281
還元剤&変性剤	
2-Mercaptoethanol suitable for cell culture, 99%	M3148
DL-Dithiothreitol (DTT), ≥99%	D9163
DL-Dithiothreitol (DTT) solution, 1 M in H ₂ O	43816
Tris (2-carboxyethyl) phosphine hydrochloride	68957
Urea 8 M (after reconstitution)	U4883-6X25ML

電気泳動：mPAGE®プレキャストゲル

mPAGE®Bis-Trisプレキャストゲル (10枚/箱)			
アクリルアミド濃度	10-well (80 µL/well)	12-well (60 µL/well)	15-well (40 µL/well)
4-12%	MP41G10	MP41G12	MP41G15
4-20%	MP42G10	MP42G12	MP42G15
8-16%	MP81G10	MP81G12	MP81G15
8%	MP8W10	MP8W12	MP8W15
10%	MP10W10	MP10W12	MP10W15
12%	MP12W10	MP12W12	MP12W15

電気泳動：mPAGE®プレキャストゲル

製品名	数量	カタログ番号
mPAGE®トライアルキット		
トライアルキットにはプレキャストゲル2枚、ランニングバッファー粉末1 L分、アダプター、カセットオープナーが含まれています。		
mPAGE® Trial Kit, 4-12%, 12-well, MOPS		MP41G12TR1
mPAGE® Trial Kit, 4-20%, 12-well, MOPS		MP42G12TR1
mPAGE® Trial Kit, 10%, 12-well, MOPS		MP10W12TR1
mPAGE® Trial Kit, 4-12%, 12-well, MES		MP41G12TR2
mPAGE® Trial Kit, 10%, 12-well, MES		MP10W12TR2
mPAGE® Trial Kit, 12%, 12-well, MES		MP12W12TR2
mPAGE®プレキャストゲルアクセサリー		
mPAGE® Adapter Plates	2	MPTA
mPAGE® Gel Cassette Opener	1	MPC0
mPAGE® Buffer Dam	1	MPBD

電気泳動：mPAGE® バッファー

製品名	数量	カタログ番号
mPAGE® Buffers		
mPAGE® 4X LDS Sample Buffer	10 mL	MPSB-10ML
	250 mL	MPSB-250ML
mPAGE® MES SDS Running Buffer Powder (each packet makes 1 L)	5 packets	MPMES
mPAGE® MOPS SDS Running Buffer Powder (each packet makes 1 L)	5 packets	MPM0PS

タンパク質分子量マーカー (ラダー)

製品名	カタログ番号
染色済み分子量マーカー	
mPAGE® Color Protein Standard, 500 µL	MPSTD4
BLUEye Prestained Protein Ladder	94964-500UL
Color Marker Ultra-Low Range (M.W. 1,060-26,600)	C6210
ColorBurst™ Electrophoresis Marker, mol wt 8,000-220,000 Da	C1992
Prestained Molecular Weight Marker, mol wt 26,600-180,000 Da	SDS7B2
未染色分子量マーカー	
mPAGE® Unstained Protein Standard, 500 µL	MPSTD3
mPAGE® Western Protein Standard	MPSTD2
Biotinylated Molecular Weight Marker, mol wt 6,500-180,000 Da	B2787
SigmaMarker™ low range, mol wt 6,500-66,000 Da	M3913
SigmaMarker™ wide range, mol wt 6,500-200,000 Da	S8445

タンパク質染色液

製品名	カタログ番号
発色	
ReadyBlue® Protein Gel Stain, 1 L	RSB-1L
EZBlue™ Gel Staining Reagent	G1041
ProteoSilver™ Plus Silver Stain Kit	PROTSIL2-1KT
ProteoSilver™ Silver Stain Kit	PROTSIL1-1KT
Reversible Protein Detection Kit for Membranes and Polyacrylamide Gels	RPROB-1KT
Coomassie Brilliant Blue G solution, Concentrate	B8522
Coomassie Brilliant Blue R, pure	B7920
Fast Green FCF, Dye content ≥ 85 %	F7252
蛍光	
EZFluor™ 1-step Fluorescent Protein Gel Stain	SCT145
EZFluor™ UV 1-step Fluorescent Protein Gel Stain	SCT147
SYPRO Orange Protein Gel Stain	S5692
SYPRO Ruby Protein Gel Stain	S4942
Fixing solution	
	F7264

2次元電気泳動:Auto2D®自動2次元電気泳動装置

製品名	カタログ番号
Auto2D®	
Auto2D®自動2次元電気泳動装置	BM-100
Electrode Chip	BM-1E
Solution Chip	BM-1S
Electrode Chip Plus	BM-1EP
Solution Chip Plus	BM-1SP
IEF Chip pH 3-10	BM-113010
IEF Chip pH 3-10NL	BM-113010NL
IEF Chip pH 4-7	BM-114070
IEF Chip pH 4-5.5	BM-114055
IEF Chip pH 5-6.5	BM-115065
IEF Chip pH 6-10	BM-116010
IEF Chip pH 7-10	BM-117010
PAGE Chip 6.5%	BM-12065
PAGE Chip 7.5%	BM-12075
PAGE Chip 10.0%	BM-12100
PAGE Chip 12.5%	BM-12125
Tris-Glycine Reagent Kit	BM-1RYSJ1
Tris-Tricine Reagent Kit	BM-1RYTJ1

転写メンブレン&ブロットングペーパー

製品名	形状	カタログ番号
PVDF転写メンブレン		
Immobilon®-E PVDF Transfer Membrane, 0.45 µm (アルコールによる親水化処理不要)	8.5 cm x 10 m roll	IEVH85R
	26.5 cm x 1.875 m roll	IEVH00005
	7 cm x 8.4 cm sheets, 50/pk	IEVH07850
	8 cm x 10 cm sheets, 10/pk	IEVH08100
	Blotting Sandwich*, 7 cm x 8.4 cm, 20/pk	IESN07852
	Blotting Sandwich*, 8.5 cm x 13.5 cm, 20/pk	IESN08132
	7 cm x 8.4 cm sheets, 4/pk (trial size)	IEVH07804
Immobilon®-P PVDF 転写メンブレン, 0.45 µm	8.5 cm x 10 m roll	IPVH85R
	26.5 cm x 3.75 m roll	IPVH00010
	26.5 cm x 1.875 m roll	IPVH00005
	7 cm x 8.4 cm sheets, 50/pk	IPVH07850
	8.5 cm x 13.5 cm, 10/pk	IPVH08130
	Blotting Sandwich*, 7 cm x 8.4 cm, 20/pk	IPSN07852
	Blotting Sandwich*, 8.5 cm x 13.5 cm, 20/pk	IPSN08132
Immobilon®-FL PVDF 転写メンブレン, 0.45 µm	8.5 cm x 10 m roll	IPFL85R
	26.5 cm x 3.75 m roll	IPFL00010
	26.5 cm x 1.875 m roll	IPFL00005
	7 cm x 8.4 cm sheets, 10/pk	IPFL07810
	10 cm x 10 cm sheets, 10/pk	IPFL10100
Immobilon®-P ^{SQ} PVDF 転写メンブレン, 0.2 µm	8.5 cm x 10 m roll	ISEQ85R
	26.5 cm x 3.75 m roll	ISEQ00010
	26.5 cm x 1.875 m roll	ISEQ00005
	7 cm x 8.4 cm sheets, 50/pk	ISEQ07850
	8.5 cm x 13.5 cm, 10/pk	ISEQ08130
	20 cm x 20 cm, 10/pk	ISEQ20200
Immobilon® NOW Dispenser for 8.5 cm x 10 cm rolls		IMDISP
ニトロセルロースメンブレン		
Immobilon®-NC Transfer membrane, 0.45 µm	8.5 cm x 10 m roll	HATF85R
	33 cm x 3 m roll	HATF00010
	7 cm x 8.4 cm, 50/pk	HATF07850
	8.5 cm x 13.5 cm, 20/pk	HATF08130
ブロットングペーパー		
Immobilon® Blotting Filter Paper	7 cm x 8.4 cm sheets, 100/pk	IBFP0785C
	8.5 cm x 13.5 cm, 100/pk	IBFP0813C

* Blotting sandwiches は、メンブレンと標準的なウェット式転写用 Immobilon® フィルターペーパー 2 枚で事前に組み立てられています。詳細は <https://bit.ly/transfer-membranes-kits> をご覧ください。

タンパク質転写試薬&バッファー

製品名	カタログ番号
タンパク質プロット染色	
Amido Black Staining Solution 2X, electrophoresis reagent	A8181
ATX Ponceau S red staining solution	09189-6X1L-F
Gold solution, colloidal, 0.0065% gold basis (AAS)	50755
Ponceau S solution, 0.1 % (w/v) in 5% acetic acid	P7170
Reversible Protein Detection Kit for Membranes and Polyacrylamide Gels	RPROB
転写バッファー&試薬	
CAPS, pH 3.0-7.0 (20 C, 0.5 M in H ₂ O), ≥98.0% NaOH basis (titration)	C6070
Methanol, ≥99.6%	179957
mPAGE® Transfer Buffer Powder	MPTRB
Tris-Glycine Buffer, 10x Concentrate	T4904
転写装置	
mPAGE® Mini Wet Transfer System	MWTS

免疫検出装置

製品名	形状/数量	カタログ番号
SNAP id® 2.0ウェスタンブロットティング用吸引式免疫反応システム		
SNAP id® 2.0 Systems	Mini x 2 (7.5 x 8.4 cm)	SNAP2MINI
	Midi x 2 (8.5 x 13.5 cm)	SNAP2MIDI
	MultiBlot x 2 (4.5 x 8.4 cm)	SNAP2MB3
	Mini and Midi (7.5 x 8.4 cm and 8.5 x 13.5 cm)	SNAP2MM
	Mini and MultiBlot (7.5 x 8.4 cm and 4.5 x 8.4 cm)	SNAP2MB1
	Midi and MultiBlot (8.5 x 13.5 cm and 4.5 x 8.4 cm)	SNAP2MB2
SNAP id® 2.0 Consumables	Mini Blot Holders (7.5 x 8.4 cm) 100/pk	SNAP2BHMN0100
	Midi Blot Holders (8.5 x 13.5 cm) 100/pk	SNAP2BHMD0100
	MultiBlot Holders (4.5 x 8.4 cm) 50/pk	SNAP2BHMB050
SNAP id® 2.0 Accessories	Antibody Collection Tray 20/pk	SNAPABTR
	Blot Roller 1/pk	SNAP2RL
	Mini Blot Holding Frame (single pack) 1/pk	SNAP2FRMN01
	Midi Blot Holding Frame (single pack) 1/pk	SNAP2FRMD01
	MultiBlot Frame (single pack) 1/pk	SNAP2FRMB01

抗体コンジュゲート

製品名	カタログ番号
ペルオキシダーゼコンジュゲート	
Goat Anti-Mouse IgG Antibody, Peroxidase Conjugated, H+L	AP124P
Goat Anti-Rabbit IgG Antibody, Peroxidase Conjugated	AP132P
Streptavidin – Peroxidase	S5512
蛍光色素コンジュゲート	
Anti-Rabbit IgG (H+L), F(ab') ₂ fragment, CF 680 antibody produced in goat	SAB4600362
Anti-Mouse IgG (H+L), F(ab') ₂ fragment, CF 680 antibody produced in goat	SAB4600361
Anti-Mouse IgG1 (γ1), CF 770 antibody produced in goat	SAB4600380
Anti-Goat IgG (H+L), highly cross-adsorbed, CF 770 antibody produced in donkey	SAB4600374

免疫検出バッファー

製品名	容量	カタログ番号
シグナルエンハンサー試薬		
Immobilon® Signal Enhancer for Immunodetection	500 mL	WBSH0500
	100 mL (trial size)	WBSH0500-100ML
ブロッキングバッファー		
Gelatin blocking buffer, powder blend	1L	G7663-1L
Immobilon® Block-CH Reagent, Chemiluminescence Detection	500 mL	WBAVDCH01
	100 mL (trial size)	WBAVDCH01-100ML
Immobilon® Block-FL Reagent, Fluorescence Detection	500 mL	WBAVDFL01
	100 mL (trial size)	WBAVDFL01-100ML
Immobilon® Block-PO Reagent, Phosphoprotein Detection	500 mL	WBAVDP001
	100 mL (trial size)	WBAVDP001-100ML
Phosphate-Buffered Saline, dry powder, pH 7.4, contains 3% non-fat milk		P2194
Phosphate buffered saline with 5% nonfat milk, powder, pH 7.3		P4739
Phosphate-Buffered Saline, powder, pH 7.4		P3813
Tris-Buffered Saline, with BSA, pH 8.0, powder		T6789
Western Blocker™ Solution, for HRP detection systems	400 mL	W0138
Bovine Serum Albumin, heat shock fraction, pH 7, ≥98%		A7906
Immunoblot Blocking Reagent	20 g	20-200
ChemiBLOCKER™ blocking agent	1 L	2170
5% Alkali-soluble Casein	225 mL	70955
ウォッシュバッファー&試薬		
Phosphate-Buffered Saline, pH 7.4 (in solution), contains TWEEN® 20 detergent, tablets		08057
Phosphate-Buffered Saline, pH 7.4, contains TWEEN® 20 detergent, dry powder		P3563
Tris-Buffered Saline, 10X solution		T5912
Tris-Buffered Saline with TWEEN® 20 detergent, tablets pH 7.6		91414
Tris-Buffered Saline, pH 8.0, powder		T6664
Tris-Buffered Saline, with TWEEN® 20 detergent, pH 8.0, powder		T9039
TWEEN® 20 detergent		P9416
pHast Pack™ Phosphate buffered saline, pH 7.4, powder	20 x 500 mL	PPB006-20PAK
pHast Pack™ Tris Buffered Saline pH 8.0, powder	20 x 500 mL	PPB001-20PAK

検出基質

製品名	容量	カタログ番号
Immobilon®ペルオキシダーゼ化学発光基質		
Immobilon® UltraPlus HRP Substrate	2 x 50 mL	WBULP-100ML
	2 x 10 mL	WBULP-20ML
	2 x 5 mL (trial size)	WBULP-10ML
Immobilon® ECL Ultra Western HRP Substrate	2 x 50 mL	WBULS0100
	2 x 250 mL	WBULS0500
	2 x 10 mL (trial size)	WBULS0100-20ML
Immobilon® Western Chemiluminescent HRP Substrate	2 x 50 mL	WBKLS0100
	2 x 250 mL	WBKLS0500
	2 x 25 mL (trial size)	WBKLS0050
Immobilon® Forte Western HRP Substrate	100 mL	WBLUF0100
	500 mL	WBLUF0500
	20 mL (trial size)	WBLUF0020
Immobilon® Crescendo Western HRP Substrate	100 mL	WBLUR0100
	500 mL	WBLUR0500
	20 mL (trial size)	WBLUR0020

検出基質

製品名	容量	カタログ番号
Immobilon®ペルオキシダーゼ化学発光基質		
Immobilon® Classico Western HRP Substrate	100 mL	WBLUC0100
	500 mL	WBLUC0500
	20 mL (trial size)	WBLUC0020
蛍光基質		
3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB), Enhanced HRP Membrane Substrate		T9455
3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB), Insoluble	100 mL	613548-100ML

ストリッピングバッファー

製品名	容量	カタログ番号
Re-Blot™ Plus Mild Antibody Stripping Solution	10 x 50 mL	2502
Re-Blot™ Plus Strong Antibody Stripping Solution	10 x 50 mL	2504
Blot Restore Membrane Rejuvenation Kit	1 kit	2520-M

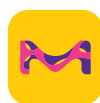
電源装置&アクセサリ

製品名	Detail	カタログ番号
電源装置		
mA700 Essential Power Supply	mA700 Power Supply with cord for the US, Canada, and locations using NEMA 5-15P (YP12) plugs	MA700-US
	mA700 Power Supply with cord for France, Germany, and locations using CEE 7/7 (YP22) plugs	MA700-EU
	mA700 Power Supply with cord for the UK, Ireland and locations using type G (YP61) plugs	MA700-UK
	mA700 Power Supply with cord for Japan and locations using YP18 plugs	MA700-NI
	mA700 Power Supply with cord for China and locations using Type I (YP03) plugs	MA700-ZH
mA400 Basic Power Supply	mA400 Power Supply with cord for the US, Canada, and locations using NEMA 5-15P (YP12) plugs	MA400-US
	mA400 Power Supply with cord for France, Germany, and locations using CEE 7/7 (YP22) plugs	MA400-EU
	mA400 Power Supply with cord for the UK, Ireland and locations using type G (YP61) plugs	MA400-UK
	mA400 Power Supply with cord for Japan and locations using YP18 plugs	MA400-NI
	mA400 Power Supply with cord for China and locations using Type I (YP03) plugs	MA400-ZH
アクセサリ		
Blot Roller	1/pk	SNAP2RL
Filter Forceps	3/pk	XX6200006P

Millipore®

Preparation, Separation,
Filtration & Monitoring Products

SigmaAldrich.com



サイエンス系
お役立ちメディア
M-hub



かんたんカタログ検索
**カタログ
ファインダー**



メルク ライフサイエンス - メールニュース
www.merckmillipore.com/wm



メルク ライフサイエンス 公式
SNS、動画コンテンツをご覧ください。

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格（税別）です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2023年6月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Original is Lit. No. MK_BR4306EN Ver. 3.0 34607 04/2023

メルク株式会社

ライフサイエンス サイエンス & ラボソリューションズ事業本部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.com/bio

E-mail: jpts@merckgroup.com Tel: 03-4531-1140

RBM354-2306-PDF-A