

Azure ChemiWriter ECL

プロットアノテーション用化学発光ペン

ショートプロトコール

AC2146 Azure ChemiWriter ECL

概要

Azure ChemiWriter ECLを使用し化学発光ウェスタンブロット上に書いてください。ChemiWriterに含まれる試薬がHRP基質と反応して化学発光シグナルを発するので、そのシグナルをフィルムもしくはCCDイメージングにより検出することが可能です。独自の「インク」を使って、染色済みのタンパク質標準物質を化学発光させたり、ブロットに日付やブロット番号を注釈したり、HRP基質の品質をチェックしたりすることができます。

ショートプロトコール

1. 標準的な手順でSDS-PAGE電気泳動を実施してください。
2. 泳動によって分離されたタンパクを標準的な転写法（ウェット法、ドライ法、セミドライ法）によりゲルからPVDFもしくはセルロースアセテートメンブレンに転写してください。
3. より簡単なアノテーションを行うには、Azure ChemiWriter ECLを使用する前に5分～10分メンブレンを乾燥させてください。
4. ChemiWriterのキャップを開けて、ブロットに記入してください。青色のインクにより、マーキングした場所を確認することができますが、ウェスタンブロッティングや以降のアプリケーションに影響を与えることはありません。

ショートプロトコール（続き）

5. マーキング後のメンブレンに対して標準的なウェスタンブロットティングを実施してください。
6. Azure ChemiWriter ECL でのマーキングやHRPで標識されたタンパクを検出するためには メーカーのインストラクションにしたがってAzure RadianceやRadiance PlusなどのHRP基質と反応させてください。
7. 過剰な試薬を捨てます。
8. 濡れたメンブレンをプラスチックラップに包みX線フィルムに露光させます。シグナルはCCDベースイメージャーでも検出することが可能です。

コツ

- ChemiWriterにはHRP基質と反応して化学発光シグナルを含んでいると同時に、マーキングした場所が確認できるような青色のインクが含まれています。
- 細書き用と太書き用の2種類のペン先がついています。細書き用のペン先はプロットのマーキングに、太書き用のペン先はラダーマーカ―の検出用マーキングに使用することをお勧めします。
- ペンの太書き用のペン先を使用して、プロット上に試薬を増量して、より強いシグナルを得ることができます。
- 最良の結果を得るためには、転写後、ウェスタンブロッティングプロトコルを開始する前に、プロットにマーキングすることをお勧めします。
- マーキングしたプロットは、乾燥または湿潤、冷蔵または室温で保存することができます。Azure ChemiWriter ECL試薬とプロット上の青インクのマーキングは、少なくとも3カ月間安定です。
- ChemiWriterはキャップをしっかりと閉めて、室温で保管してください。