

ブロットカートリッジを用いてJessでブロットイメージング クイックリファレンスガイド



ステップ1 – 準備

メンブレンの準備とブロットカートリッジの組み立て

従来法のウェスタンブロットでは、タンパク質をSDS-PAGEゲルからニトロセルロースもしくはPVDFメンブレンに転写しますので、メンブレンの端をもって丁寧に扱うようにご注意ください。

1. ブロットカートリッジのガラス上に書かれている枠内に納まるように、メンブレンを適切な大きさに切ります。
2. 1.5 mL のお好みの化学発光試薬(Enhanced chemiluminescence (ECL) substrate)を用意します。
3. 750 μ Lの化学発光試薬をブロットカートリッジ上部に沿って、黒いプレートの上に加えます。
4. 気泡の形成を最小限にするために、タンパク質のある面を上にしてメンブレンを黒いプレートの上に静かに置きます。
5. シグナルの予想される位置がブロットカートリッジのガラスカバー上に書かれている枠内に納まるように確認してください。
6. メンブレンの上部に沿って、残り750 μ Lの化学発光試薬を加えます。
7. 気泡形成を最小限に抑えながら、ブロットカートリッジのガラスカバーを閉じます。
8. カートリッジの底の余分な液体を拭きとります。

1 luminol/peroxideを加える



2 メンブレンを置く



3 luminol/peroxideをさらに加える



4 透明なプレートをやさしく閉じる



ブロットカートリッジの組み立てステップ



ブロットカートリッジの挿入

1. CompassforSimpleWesternソフトウェアが装置に接続されていることを確認します。
2. メンブレンを挟んだブロットカートリッジをカートリッジホルダーに挿入します。正しく挿入すると、カートリッジホルダーの明かりがオレンジから青に変わります。

カートリッジホルダー

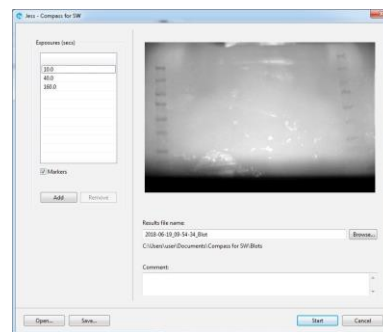
ソフトウェアは自動的にブロットスクリーンに変わります:



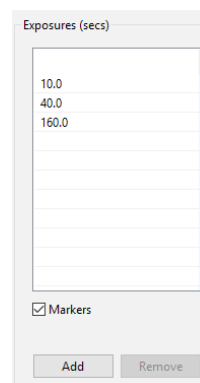
注:画像取得前に、Jessのドアを必ず閉めてください。

ステップ2 – 画像取得を始めます

ブロットカートリッジをインストールし、ドアを閉めると、Compassは自動的にプレビューイメージを表示します。

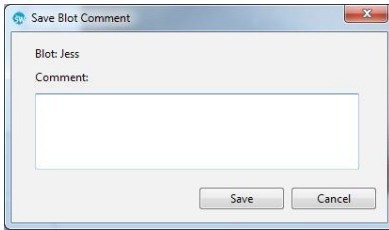


1. **Exposures**テーブルで露光時間を編集します:



- a. 露光時間を追加するには: **Add**をクリックし、加えた露光時間を選択し、変更します。
- b. 露光時間を削除するには: 削除する露光時間を選択し、**Remove**をクリックします。
- c. 露光時間を編集するには: 編集する露光時間をクリックし、時間を入力します。
- d. 分子量マーカーラダーがある場合、**Markers**ボックスにチェックを入れます。

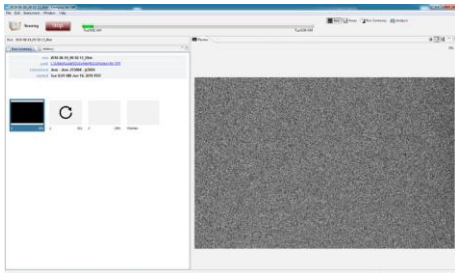
3. プロットイメージングの設定を保存している場合(*blot) をクリックします。プロットイメージングプロトコールファイルを選択し、**Open**をクリックします。
4. **Results File**の名前と保存先の変更も可能です。通常、プロットイメージファイル名は、“日付_時間_blot”と自動的に名付けられ、ドキュメントフォルダー内のCompass for SWBlotsフォルダーに保存されます。
- 5 プロット画像と一緒にコメントを付けて保存することもできます(オプション)。



6. このプロットイメージプロトコールに関連する設定を保存するには、**Save**をクリックし、**Save**ダイアログを表示します。(オプション)
7. **Start**を押します。

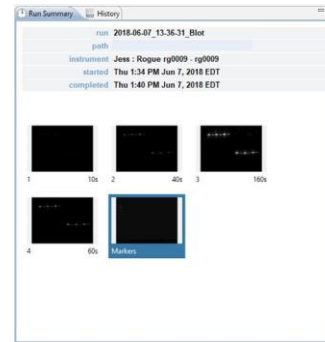
ステップ3 – IMAGING RUN SUMMARYと解析

1. 画像を取得し始めると、サムネールは、**Run Summary**スクリーンに表示されます。



イメージを取得し始めると、サムネールボックスが作られ、**Review**ペインに表示されます。サムネール上をクリックしない限り、最新画像が**Review**ペインに表示されます。まだ取得されていない画像は、空欄で表示されます。

2. **Run Summary** で、各露光時間で得られた画像をサムネール表示します:



注:プロット撮影後に**Markers**画像を撮影します。全ての画像を撮影する前に**Stop**をクリックすると、ソフトウェアは、**Markers**画像を撮影する前に中止することを確認してきます。

3. **Review**の右にあるツールバーでプロットイメージを調節し、もしくは改善することができます。



Reviewのツールバーにあるボタン:



コントラスト調整



自動コントラスト



反転



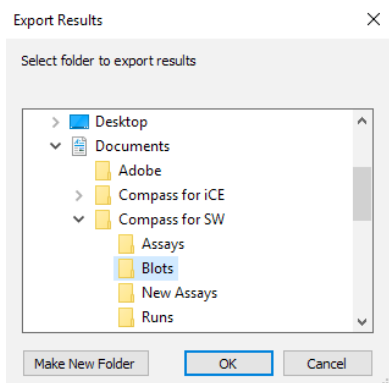
マーカーと重ね合わせ

プロットイメージの**Review**の例:



イメージファイルのエクスポート

生データの画像をエクスポートするには、メインメニューの**File**から、**Export Images**を選択します。エクスポートするイメージを保存するフォルダーを選択します。



エクスポート終了後、保存したファイルにアクセスするために、**Compass**は自動的に **Windows Explorer window** を起動します。画像は.png形式で保存されます。**Compass for SW**は選択したフォルダー内に生データのイメージと調整済みのイメージを保存します。

生データの化学発光イメージは、<結果のファイル名>_Chemi_<露光番号>_<露光時間>と保存されます。

調整済みイメージは、**Review** で見られるように<結果のファイル名>_<露光時間>_viewと保存されます。

ステップ2の1-dで**Markers**ボックスにチェックされている場合、生データのイメージと処理されたマーカーのイメージは、それぞれ<結果のファイル名>_Markers、<結果のファイル名>_Markers_viewと保存されます。

ステップ4 – 画像取得後の操作

画像取得後にすること:

1. プロットカートリッジを取り除きます。
2. メンブレンを取り除き、プロットカートリッジを水できれいにします。リントフリーペーパー (極細の短繊維などが生じない紙) で乾かします。
3. 装置内のプロットカートリッジを取り付けた下の部分を、乾いたリントフリーペーパーでふき取ります。
4. プロットカートリッジを、乾燥していて埃のないきれいな場所に保管します。