

アクリルアミドゲルからのタンパク質のブロッキング

はじめに

ブロッキングにおけるタンパク質移動率は複数の因子によって異なります。例えば、ゲル濃度、ゲルの厚さ、タンパク質サイズ、移動条件（例：緩衝液と電圧）、膜の種類や質などがあります。最適な移動効率を得るには、移動条件をこれらの多様な因子に合わせて調整する必要があります。

最適なメンブレンの選択ガイド

Nitrocellulose	PVDF	Nylon
Hydrophobic binding	Hydrophobic binding	Hydrophobic and electrostatic binding
General purpose membrane	SDS tolerant	Stable if baked
Low background	High background	High background
Low strength	High strength	High strength
Becomes brittle if baked	Suitable for protein sequencing	Least suitable for Western transfer

Towbin トランスファーバッファの組成

1X Working Solution	Amount for 1X Working Solution
25 mM Tris base	30.3 g Tris base
192 mM Glycine	144.1 g Glycine
0.1% SDS	10.0 g
	Adjust volume to 8 liters with distilled water. Measure, but do not adjust pH; it should be approximately 8.2 to 8.4
20% Methanol	2 L Methanol
	Adjust volume to 10 liters with distilled water

移動と結合のバランスを最適化するためにはメタノール、SDSもしくは両方の濃度を低くする必要があります。メタノールとSDSのタンパク質移動への効果の概要を以下の表に示します。

SDS	Methanol
Improves transfer of proteins >60 kDa	Improves binding efficiency
Decreases binding efficiency	Decreases transfer efficiency
Not compatible with nylon membranes	Do not soak gel in transfer buffer prior to blotting
Include 0.1% – 0.2% in transfer buffer	Include 20% in transfer buffer

PAGEr™GoldゲルおよびPAGEr™EXゲルやその他のLaemmliブレイキャストミニゲルから短時間で効率的にタンパク質のトランスファーを得るには、1×ProSieve™EXウェスタントランスファーバッファーをお使いください。スピードが加速し、使いやすくなっており、メタノールを含んでいません。