

AE-1465 EzFastBlot 취급 설명서

1. 본제품을 안전하게 사용하기 위한 주의 사항

본제품을 안전하게 사용하기 위해 우선 본 설명서를 잘 읽어봐 주세요. 본 취급 설명서의 내용을 충분히 이해하기 까지 조작은 피해 주세요. 또한 본취급설명서는 본제품을 지정 목적에 사용 이외에는 사용하지 말아 주십시오. 동시에 사용하는 장치의 설명서도 잘 읽고 숙지 후 사용해 주십시오.

2. 사용 목적

본 제품은 세미 드라이식 단백질 블롯 방법으로 전기영동 후 젤로부터 단백질을 membrane blotting하기 위해 사용 합니다.

3. 본 제품의 구성

명칭	용량	개수
EzFastBlot	10ml	1개

4. 보존 방법

미개봉의 Ez FastBlot 은 실온에 보관해 주세요.

미개봉의 상태에서 사용기한(제조일로 부터 1년간)내에 있으면 안전합니다.

희석후 Working 용액도 실온 보존 가능합니다만 가능한 빨리 사용해 주십시오.

5. 폐기 방법

각 시약의 폐기는 소속 기관의 폐기 방법에 따라 처리해 주십시오. (본제품은 PRTR법, 독극물 bottle 재질 본체, 뚜껑 : 폴리프로필렌)

6. 본제품 이외에 필요한 것들

* mini size gel(1mm)를 Blotting하는 경우, 아래의 제품이 필요합니다.

1. Membrane (NC 또는 AE-6665 PVDF 85mm x 90mm)
2. Filter Paper 6장 (CB-09A 85mm x 90mm x 0.8mm)
3. Semi-Dry식 Blotting 장치 (AE-6687 HorizBLOT 2M)

7. 사용상 주의 사항

본 제품은 10배 농도로 농축되어 있습니다. 사용시 증류수로 1/10농도로 희석해 주세요.

Blotting 장치에 사용 가능한 최대 부하전류가 있습니다.

AE-6687 HorizBLOT 2M : 1 A

AE-6688 HorizBLOT 4M : 1.2 A

그 이상의 전류를 사용하면 장치 파손의 가능성이 있습니다.

8. 사용방법

A. 시약의 사용방법

본제품을 증류수로 1/10농도로 희석 하십시오.

희석 후 Working Solution이 됩니다.

B. Membrane 의 친수화

PVDF를 사용하는 경우에는 사전에 Membrane을 친수화 합니다.

다음의 순서에 따라 Membrane을 친수화 합니다.

1. PVDF 보다 큰 Tray에 수 ml의 MeOH을 넣고

그곳에 PVDF를 넣고 10초 동안 담가 놓습니다.

2. MeOH를 제거 후 Blotting Buffer를 50ml을 넣고 30분 이상 흔들어 줍니다.

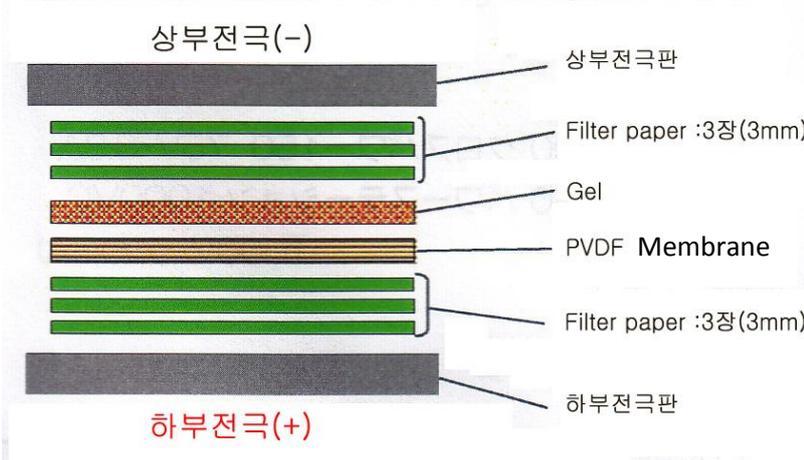
이때에는 반듯이 PVDF가 완전히 잠기도록 합니다.

처음에는 Membrane이 뜰수 있으니 주의해 주세요.

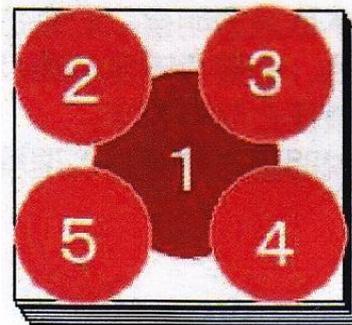
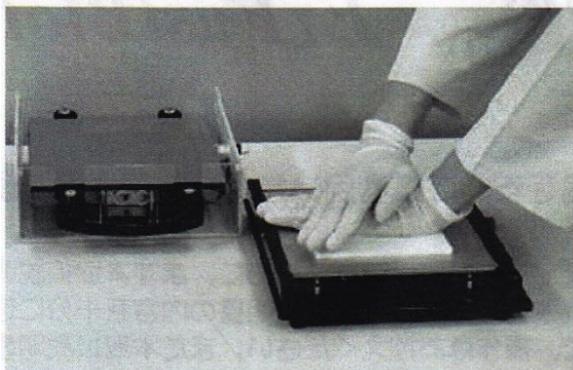
불완전한 친수화 처리는 단백질의 유무, 감도 저하의 원인이 됩니다.

C. Blotting

1. Membrane 보다 큰 용기를 사용하고 Blotting Buffer를 약 50ml을 넣고 Membrane을 담가 놓습니다. Filter paper는 6장 사용합니다. 두께가 다른 타사 것을 사용하는 경우는 합계 6mm 두께가 되도록 장수를 늘립니다.
2. 전기영동이 끝나면 젤을 50ml의 Blotting Buffer가 들어있는 용기에 넣고 표면을 가볍게 행구(수분이내)어 미세한 젤표면과 SDS를 제거 합니다.
3. 아래 그림대로 Filter paper, Membrane, 젤을 순서에 맞게 쌓아 놓습니다.



- ① Blotting Buffer 수ml을 하부전극판에 뿌리고 미리 전극판을 적십니다.
- ② 하부전극판 위에 Blotting buffer에 담겼던 Filter paper 3장을 차례로 쌓아 놓습니다.
- ③ PVDF Membrane을 Filter paper위에 쌓아 놓습니다.
- ④ 수ml의 Buffer로 PVDF Membrane 표면에 골고루 뿌립니다
- ⑤ PVDF 와 젤 사이에 기포가 발생하지 않도록 젤을 쌓아 놓습니다.
- ⑥ Blotting Buffer에 적신 3장의 Filter Paper를 젤 위에 차례로 쌓아 놓습니다.
- ⑦ 젤과 Membrane의 밀착성을 높이기 위해 글러브를 낀 손으로 위에서 부터 강하고 평등하게 눌러 주고 젤과 막사이에 여분의 Bubble을 제거 합니다.(사진 참조)밀착이 잘 되어있지 않으면 Blotting 효율이 떨어지는 원인이 될 수 있습니다.



<중앙과 주변 네곳을 잘 눌러 젤과 Membrane 간의 밀착이 확실히 되도록 합니다.>

- ⑧ 상부전극판을 쌓아 놓은 Filter paper위에 잘 밀착시켜 Blotting 장치와 전원장치를 리드선과 연결 합니다. HorizBLOT 2M/4M은 하부전극이 (+)(빨간색)입니다. 하부전극에는 리드선이 빨간색 단자를 접속합니다.
- ⑨ 젤의 표면당 6~7mA/cm²의 조건으로 5~15분 통전을 합니다. 이때에 전압은 약 30V~40V입니다. 전압은 50V이상 상승하지 않도록 전원장치의 설정을 해 놓습니다.
Compact Gel(60mm x 60mm) : 250mA/장
Mini Gel(85mm x 90mm) : 450mA/장
종래의 경우로 할 경우에는 젤 표면적당 2mA/cm²의 조건으로 30~60분 영동합니다.

10. 참고사항

Blotting은 같은 Protocol이더라도 사소한 기술의 변동에 큰 결과 차이가 발생할수도 있습니다. 참고 사항이 필요하시면 저희 회사 042)822-1117, info@attokorea.co.kr로 문의해 주시면 성심껏 도움 드리겠습니다.