

Amersham™ DIGE Unit LF24

日本語簡易操作ガイド



The safety instructions are located in the *Amersham DIGE Unit LF24 Operating Instructions, 29701249* on the translation CD delivered with the product.

All users must read the entire Operating Instructions before installing, operating or maintaining the product.

Scan the QR code or visit cytiva.com/instructions. Type 29701249, and download the Operating Instructions.

For more information go to cytiva.com.



本資料はサポート資料です。本システムの詳細および操作方法については、[Amersham™ DIGE Unit LF24 Operating Instructions](#) をご参照ください。

2023年 12月

Version 1.0

1 製品概要

Amersham™ DIGE Unit LF24 (29701935) は大型ゲル二次元電気泳動のうち、二次元目のゲル電気泳動実施のために設計されたモジュールです。ゲルは専用のプレキャストゲル、DIGE Gels LF24 (29706670) を使用します。

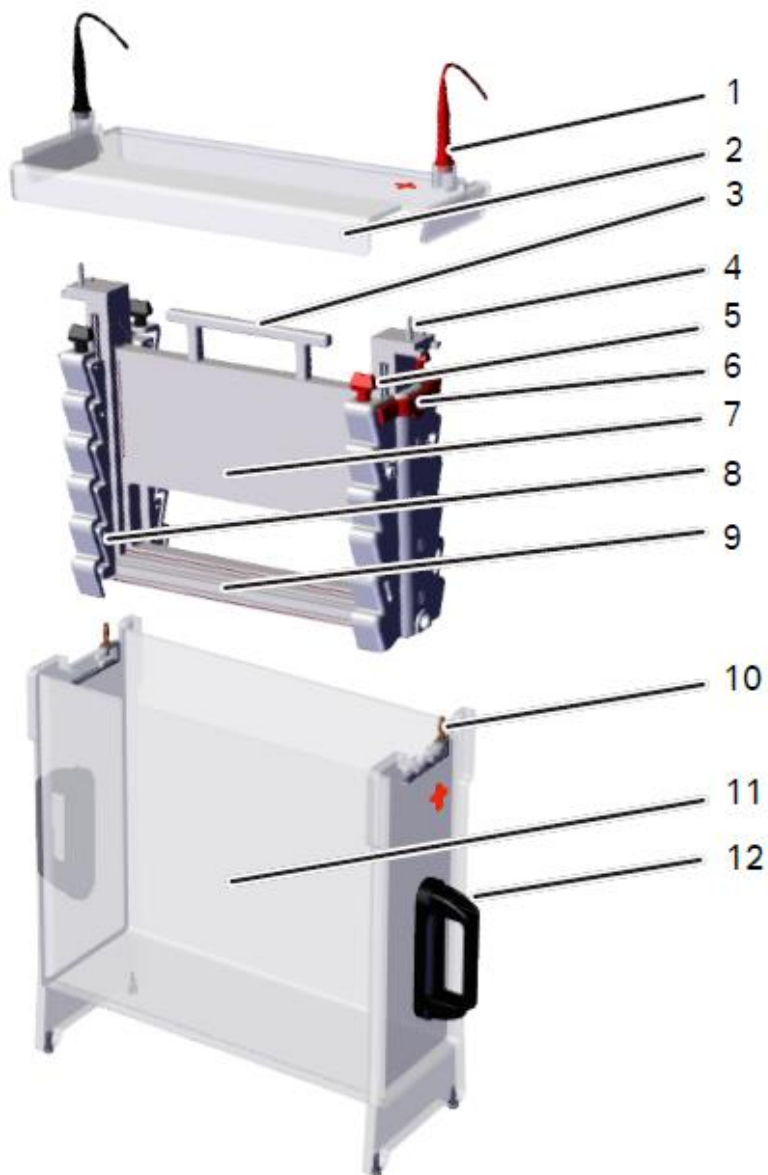
ゲル電気泳動後にプロットイング（転写）を行う場合は、Amersham™ DIGE Unit LF24 (29701935) の DIGE LF24 タンクと、Transfer Unit LF24 (29701936) を組み合わせて行います。

用途	必要な製品	概要図
電気泳動	Amersham™ DIGE Unit LF24 (29701935)	 <p>ゲルカセットホルダー</p> <p>DIGE Unit LF24 タンク</p>
プロットイング	Amersham™ DIGE Unit LF24 (29701935) Amersham™ transfer LF24 (29701936) ※	 <p>Amersham™ transfer LF24 ※</p> <p>DIGE Unit LF24 タンク</p>

※Amersham™ transfer LF24 (29701936) は、ウェット式プロットイング用に設計されたオプションアクセサリです（別売）。Amersham™ DIGE Unit LF24 (29701935) には含まれていません。

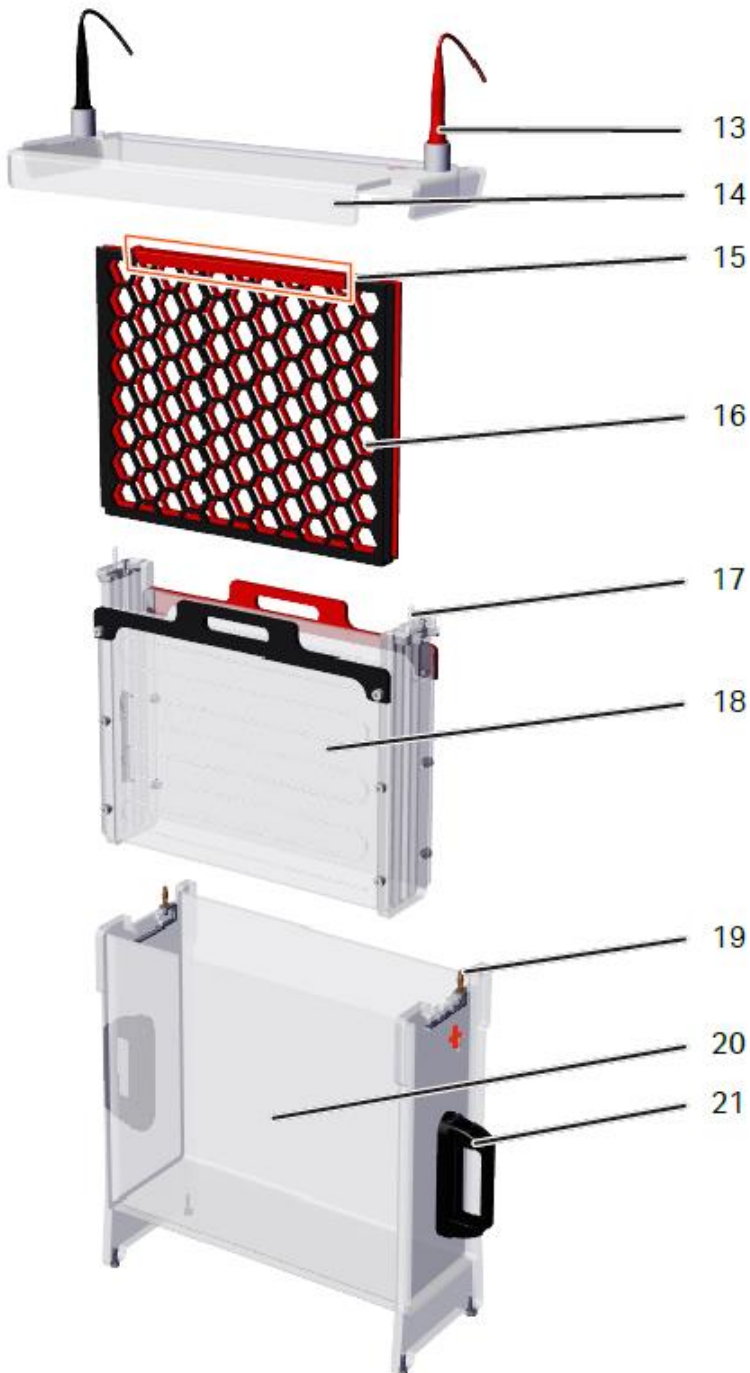
2 モジュール構成

2-1 電気泳動モジュール



パーツ	名称
1	Power lead (4 mm)
2	Safety lid
3	Handle on gel cassette holder
4	Placeholder pin
5	Clamp screw
6	Polarity marker
7	Gel cassette holder
8	Plastic clamp
9	Rubber gasket
10	Banana plug
11	Tank
12	Handle on tank

2-2 プロットイングモジュール



パーツ	名称
13	Power lead (4 mm)
14	Safety lid
15	Hinge on the transfer cassette
16	Transfer cassette
17	Placeholder pin
18	Transfer cassette holder
19	Banana plug
20	Tank
21	Handle on tank

3 試薬消耗品（別売）

Amersham™ DIGE Unit LF24（29701935）には試薬消耗品類は含まれていません。別途購入が必要です。



3 - 1 DIGE Gels LF24 (29706670)

Amersham™ DIGE unit LF24 で使用可能なプレキャストゲル（3 枚入り）です。
製品仕様は下記をご覧ください。

[DIGE Gels, DIGE Gels LF24, and DIGE Buffer Kit Cue Cards](#)

3 - 2 DIGE Buffer Kit（28937452）

Amersham™ DIGE unit LF24 で、プレキャストゲル DIGE Gels LF24（29706670）の電気泳動に最適化した泳動バッファークिटです。1 キットで Amersham™ DIGE unit LF24 を用いた電気泳動 2 回分の泳動バッファーになります。
製品仕様は下記をご覧ください。

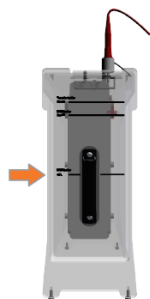
[DIGE Gels, DIGE Gels LF24, and DIGE Buffer Kit Cue Cards](#)

4 電気泳動操作方法

Immobiline™ DryStrip を使用して一次元目の等電点電気泳動を行った後、Amersham™ DIGE unit LF24 を用いた二次元目の電気泳動を実施し、ゲルをスキャンするまでを想定した操作方法です。ゲルはプレキャストゲルの DIGE Gels LF24 (29706670)を使用します。泳動バッファーは DIGE Buffer Kit (28937452) を使用します。

以下プロトコール中の(*) は DIGE Buffer Kit (28937452) 構成成分です。

1. 電気泳動に使用するプレキャストゲルを常温に戻します。
2. Sealing solution (*)をヒートブロックで 95℃に加温します。
3. anode buffer(*)を希釈して Amersham™ DIGE unit LF24 のタンクに注ぎます。
 - a. anode buffer (1 ボトル、125 mL) を大きめのビーカーに入れます。
 - b. 空になった anode buffer のボトルを蒸留水または脱イオン水でリンスして、a.のビーカーに合わせます。
 - c. 蒸留水または脱イオン水で 4.5 L にフィルアップします。
 - d. 調整済の anode buffer を Amersham™ DIGE unit LF24 のタンクに注ぎます (タンク側面に容量の目安となる目盛り線があります)。

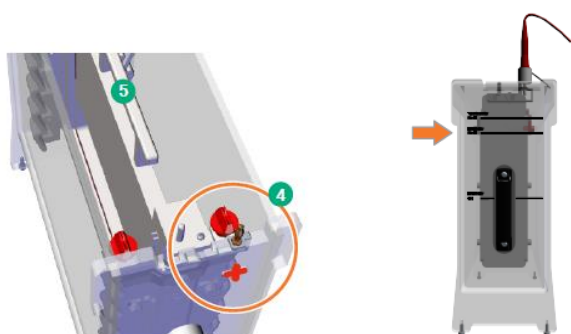


4. cathode buffer (*)を希釈します。 ※溶液の泡立ちを防ぐため、cathode buffer の希釈はゆっくりと行ってください。
 - a. メスシリンダーに 800 mL の蒸留水または脱イオン水を入れます。
 - b. cathode buffer (2 ボトル分、250 ml) をメスシリンダーに注ぎます。
 - c. 空になった cathode buffer のボトルを蒸留水または脱イオン水でリンスして、b.のメスシリンダーに合わせます。
 - d. 蒸留水または脱イオン水で 1.2 L にフィルアップします。
5. (一次元目の等電点電気泳動を実施後の) IPG ストリップを平衡化します。
 - a. IPG 平衡化バッファーを下記の組成にて事前に作成しておきます。
 - 6 M Urea
 - 50 mM Tris-HCl (pH 8.8)
 - 30% (v/v) Glycerol
 - 2% (w/v) SDS
 - 0.001% (w/v) Bromophenol blue※上記組成のバッファーを 30 mL ずつ分注し、-20℃保存しておくことをお勧めします。

- b. 使用前に、a.で調整した IPG 平衡化バッファーを用い、2 種類の平衡化バッファー-A、B を調整します。IPG ストリップ 1 本につき、以下の容量が必要です。

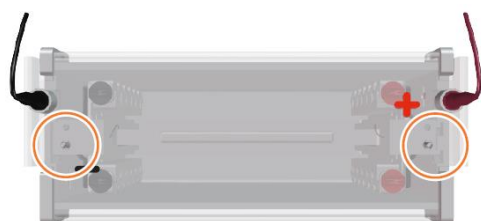
平衡化バッファー A	DTT 150 mg を 15 mL の IPG 平衡化バッファーに溶解 (1.0% w/v)
平衡化バッファー B	Iodoacetamide 375 mg を 15 mL の IPG 平衡化バッファーに溶解 (2.5% w/v)

- c. IPG ストリップを平衡化バッファー A が入ったチューブに入れます (IPG ストリップ 1 本につき、チューブは 1 本用意が必要です)。
- d. オービタルシェーカー等を使用し、チューブを 15 分間振とうしながらインキュベートします。
- e. 平衡化バッファー-B にバッファー交換します。
- f. オービタルシェーカー等を使用し、チューブを 15 分間振とうしながらインキュベートします。
- g. cathode buffer で IPG ストリップを軽くリンスします。
6. IPG ストリップをプレキャストゲルの上に載せます。
- a. IPG ストリップをガラスカセット内のゲルの上に置き、薄い定規やスパチュラを使ってゆっくりと押し込みます。IPG ストリップとゲルの間に隙間が出来ず、気泡が入らないようにしてください。
- b. 1 mL の sealing solution (2.で 95°C に加温済) を注ぎます。ピペットを用い、IPG ストリップ全体を覆うように注ぎます。気泡が入らないように注意してください。
7. Gel cassette holder に Gel cassette を挿入します (切り込みが入ったガラスプレートが内側になるようにセットします)。泳動するゲルが 1 枚のみの場合は、反対側のスロットにダミープレートを入れます。
8. Gel cassette holder をタンクに入れます。セットする向きは下図の赤丸部分を参照してください。



Gel cassette holder をタンクに沈めた後、Gel cassette 外側の anode buffer が DIGE Buffer Max Fill の線 (図中赤矢印) を超えないようにしてください。

9. 4.で調整した 1.2L の cathode buffer を内側のバッファーチャンバーに注ぎます。Safety lid をタンクの上にセットします。Placeholder pin が Safety lid の所定の位置に来るようにセットしてください (下図 赤丸部分)。



10. 電源のパワーサプライに接続します。
11. 電気泳動を開始します。泳動条件は下記を参照ください。

Program	Run phase	Voltage (V) ¹	Current (mA) ¹	Power (W/gel) ¹	Time (h)	Cooling
Day run	1	800	400	1	1	N/A
	2	800	400	17	4 to 5	N/A
Fast day run	1	800	400	1	1	Yes ²
	2	800	400	50	1.5 to 2	Yes ²
Overnight run	1	800	400	1	8	N/A
	2	80	400	1	9 to 11	N/A

¹ The maximum electrical input for the DIGE Unit LF24 is 800 V, 400 mA, and 100 W.

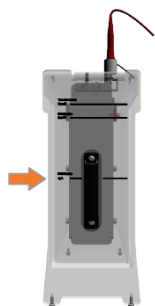
² Use cooled buffer and/or perform the run in the cold room.

12. Bromophenol blue の先端がゲルの下端まで来たら、電気泳動を終了します。
13. ゲルをスキャンします。ガラスのゲルカセットを外さずそのままの状態ですキャンします。
Note: スポットの拡散を最小限に抑えるため、泳動後、出来る限り早くゲルをスキャンしてください。
14. オプション：ゲルを保管する場合は、乾燥を防ぐため蒸留水を浸したティッシュペーパーを入れ、密閉容器に入れて遮光し、4-8℃で保管してください。

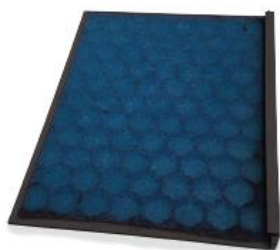
5 ブロットイング操作方法

ブロットイングバッファー（Tris 25 mM, Glycine 192 mM, Methanol 20% (v/v)）は、約 7L 使用します。Transfer cassette を 1 つのみ使用（最大 2 点同時使用可）の場合は、バッファーは 7L 以上必要になります。

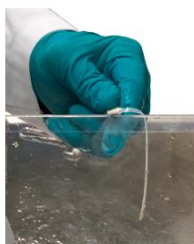
1. ブロットイングバッファーを DIGE Unit LF24 タンクの DIGE Buffer 4.5L のラインまで注ぎます。



2. ゲルを 4°C で保存していた場合は、常温に戻します。
3. メンブレンを平衡化します。
 - a. 100%メタノール溶液に 5 分間、十分に浸します。
 - b. ブロットイングバッファーに 15 分間、浸します。
4. ろ紙とトランスファースポンジをブロットイングバッファーに浸します。
5. トランスファーのセット（前半）
 - a. Transfer cassette の黒半面を実験台に置きます。
 - b. Transfer cassette 黒半面の上に、あらかじめブロットイングバッファーを浸したトランスファースポンジをセットします。スポンジの端はカセットの溝に押し込みます。



6. ゲルカセットからゲルを外します。
 - a. スパチュラなどを用いて、ゲルカセットの短辺両方にあるシリコンシーリングを外します。



- b. ゲルカセットを実験台の上に置きます（ガラス板の切り込みの入っている方を上にします）。
- c. プラスチック製のウェッジツールを使用してゲルカセットを注意深く開きます（ゲルは下のガラス板上に残った状態になります）。



- d. ガラス板上のプラスチックのスペーサーを取り除きます。
- e. ガラス板上の IPG ストリップを取り除きます。
- f. プロットティングバッファーを浸したろ紙をゲルの上に置きます（ろ紙の角をゲルの角に合わせます）。



- g. ローラーなどを用いて、ゲルとろ紙の間の空気を抜きます。

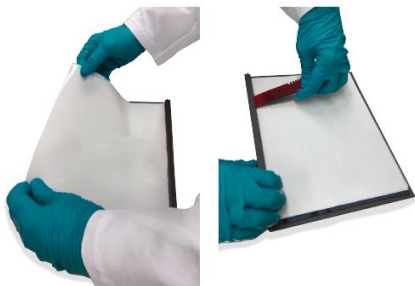


7. トランスファーのセット（後半）

- a. 6 で組み合わせたトランスファーセット（ガラス板、ゲル、ろ紙）を持ち上げて上下反転させ、5b のスポンジの上に置きます。
- b. プラスチック製のウェッジツールを使用してガラス板をゲルからゆっくりと取り外します。



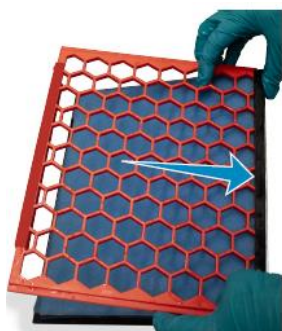
- c. 3 で平衡化したメンブレンをゲルの上に置きます。メンブレンの端を Transfer cassette 黒半面の溝に押し込みます。



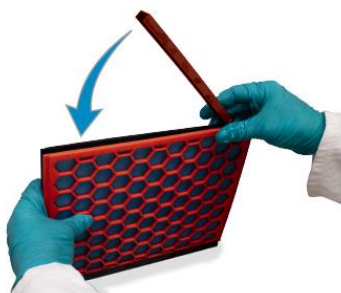
- d. メンブレンの上にプロットングバッファーを浸したろ紙を置きます。ローラーなどを用いて、各層間の空気を抜きます。
e. ろ紙の上にプロットングバッファーを浸したトランスファースポンジを置き、スポンジの端を Transfer cassette 黒半面の溝に押し込みます。



- f. Transfer cassette 赤半面を上に乗せ、Transfer cassette 黒半面の溝にスライドさせます。



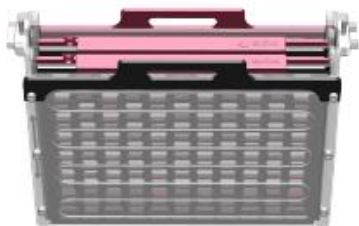
- g. Transfer cassette の黒半面と赤半面を外側から押し合わせます。ヒンジを閉じて、Transfer cassette をロックします。



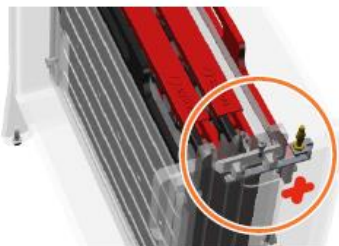
これまでの手順によって組み立てた Transfer cassette の構成は下記の通りになります。

Placement	Transfer stack
上部	Transfer cassette 赤半面
Layer 6	トランスファースポンジ
Layer 5	ろ紙
Layer 4	メンブレン
Layer 3	ゲル
Layer 2	ろ紙
Layer 1	トランスファースポンジ
下部	Transfer cassette 黒半面

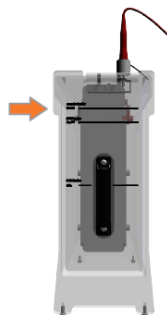
8. 7で組み立てた Transfer cassette を Transfer cassette holder に挿入します。Transfer cassette は同時にア 2 つまで Transfer cassette holder にセットすることができます。



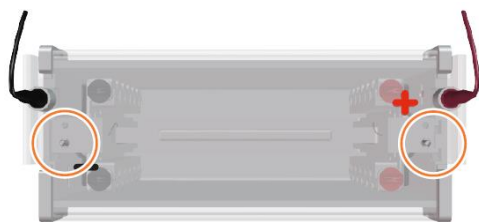
9. Transfer cassette holder を DIGE Unit LF24 タンク内にセットします。Transfer cassette holder とタンクの向きは下図を参照してください。



10. タンクの上からプロットングバッファを注ぎ、Transfer cassette 内のゲルが完全に浸かるようにします。液量上限は Transfer Buffer Max Fil の線までです。



15. タンクの上に Safety lid をセットします。Placeholder pin が Safety lid の所定の位置に来るようにセットしてください（下図参照）。



11. パワーサプライに接続します。（赤：陽極、黒：陰極）
12. 通電を開始します。通電条件は下記を参照ください。

Current (mA)	Time (min)
400 ¹	90 ²

¹ The maximum electrical input for the product is 800 V, 400 mA, and 100 W.

² Depending on the molecular weight of the proteins in the sample, the running time can require optimization.

13. プロテイング終了後、電源を切り、メンブレンを取り出します。

安全上のご注意

必ずお守りください

このしおりには、弊社機器に関する一般的な注意事項を記載しています。取扱いの詳細は必ず製品添付の使用説明書をご覧ください。

誤った取扱いをした場合に生じる危険や損害の程度を、次の区分で説明しています。

図記号の意味は次の通りです。



警告

誤った取扱いをした場合に、死亡や重傷を負う可能性があるもの。



禁止

⊘は、してはいけない「禁止」を示します。



注意

誤った取扱いをした場合に、傷害または物的損害が発生する可能性があるもの。



Ⓛは、必ず実行していただく「強制」を示します。



警告



禁止

電源プラグの抜き差しにより、
運転を停止しない

火災・感電の原因になります。



禁止

電源コードを途中で接続しない、
タコ足配線をしてはいけない

火災・感電・故障の原因になります。



禁止

電源コード・電源プラグを
傷つけない

- 加工しない ●束ねない ●ねじらない
- 折らない ●物をのせない ●加熱しない
- 無理に曲げない

破損して火災・感電の原因になります。



禁止

修理・分解・改造はしない

火災・感電の原因になります。



根元まで
差込む

電源プラグのほこりを取り除き、
刃の根元まで確実に差込む

接続が不十分だと、隙間にほこりが付着して火災・感電の原因になります。



指定の規格

取扱説明書に指定された規格の
コンセントを使用する

指定された規格以外で使用すると火災・感電の原因になります。



禁止

本体を水につけたり、
水をかけたりしない



ショート・感電の原因になります。



禁止

電源コードや電源プラグが傷んだり、
コンセントの差し込みがゆるいときは使わない

感電・ショート・発火の原因になります。



禁止

使用時や使用直後（運転停止後約
60分間）は、操作に関係のない部位には触れない

高温部に触れ、やけどの原因になります。



プラグを抜く

異常時は、運転を停止して電源プラグを抜く

異常のまま運転を続けると火災・感電の原因になります。



禁止

同梱の電源コード・電源プラグ以外のコード・プラグを使用しない

故障・火災・感電の原因になります。



禁止

同梱の電源コード・電源プラグを他の電気機器に使用しない

故障・火災・感電の原因になります。

⚠ 注意

設置時は、次のような場所には置かない



禁止

- 不安定な場所
- 湿気やほこりの多い場所
- 油煙や湯気が当たる場所
- 直射日光の当たる場所
- 風雨のあたる場所
- 熱器具の近く
- 高温になる場所
- 吸・排気口をふさぐような場所

このような場所に置くと、ショートや発熱、電源コードの被膜が溶けるなどして、火災や感電、故障、変形の原因になることがあります。

ぬれた手で電源プラグを抜き差ししない



禁止



感電の原因になります。



水平

水平で丈夫な場所に設置する



プラグを持つ

電源プラグを持ってまっすぐ引き抜く

ななめに引き抜いたり、コードを持って抜くと、プラグの刃や芯線が破損してショート・感電・発火の原因になります。

お問合せ先

Cytiva (サイティバ)

グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング

お問い合わせ：バイオダイレクトライン

Tel：03-5331-9336

e-mail：tech-jp@cytiva.com

www.cytivalifesciences.co.jp