

PAGE プロテインシステム

Cat.No. PG01

取扱説明書 Ver.202403



1. ご使用にあたって	3
1.1 はじめに	3
1.2 使用目的	3
1.3 安全情報	3
1.4 保証	3
1.5 規制上の告知	3
1.6 仕様	4
2. 構成	4
2.1 構成品の確認	4
2.2 構成品一覧	4
2.3 構成品詳細	5
3. 使用方法	7
3.1 自作ゲルの作製	7
3.1.1 自作ゲルキットの組み立て	7
3.1.2 ポリアクリルアミドゲルの作製	9
3.2 PAGE プロテインシステムの操作方法	10
3.2.1 U字型パッキンの選択	10
3.2.2 ゲルチャンバーの組み立て	10
3.2.3 チャンバータンクへのセッティング	11
3.2.4 サンプルの準備	12
3.2.5 サンプルのアプライ	12
3.2.6 電気泳動の実行	12
4. トラブルシューティング	13

1. ご使用にあたって

1.1 はじめに

この度はFastGene™ PAGE プロテインシステムをお買い上げいただきありがとうございます。

この取扱説明書はPAGEプロテインシステムを正しくご使用いただくためのものです。ご使用前にこの取扱説明書をよくお読みいただき、内容をご理解いただいた上でご使用ください。

また本装置は電気泳動用の電源装置と接続して使用します。ご使用の際は、接続する電源装置の取扱説明書もよくお読みになりご使用ください。

本取扱説明書をお読みになった後も、装置のそばなどお手元に置いてご活用ください。

1.2 使用目的

本製品はタンパク質を分子量ごとに分離するポリアクリルアミド電気泳動（SDS-PAGE）を行うための装置です。

プレキャストゲルだけでなく、自作ゲル（1 mm厚）に必要な機器も全て含まれるセットで、1～4枚までのゲルを同時に泳動することが可能です。

1.3 安全情報

以下の注意事項をよく読んで、FastGene™ PAGE プロテインシステムを適切にご使用ください。

- 本装置や電源ケーブル等に触れるときは必ず先に電源装置のスイッチを切ってください。
決して電源装置を切らずにタンクカバーを外したり、ケーブルを外したりしないでください。
- 濡れた手でケーブルに触らないでください。
- 熱器具または火気の近くに置かないでください。
- ぐらつきや傾きのある不安定な場所に置かないでください。
- 水しぶきやほこり等がかかる場所で使用しないでください。
- 壁から離して設置してください。
- 電源装置に接続する前に、ケーブルに劣化がないことを確認してください。
- プラグを抜き差しする際は根元を持って行ってください。
- 煙や変なにおいなど異常が発生した場合はすぐに電源装置を切り、電源プラグをコンセントから抜き、安全を確認してから弊社までご連絡ください。
- 本装置を改造または分解しないでください。

1.4 保証

本機器を取扱説明書に沿った適切なお使用方法で使用された際に発生した、破損及び製造上の不具合につきましては、購入日より1年間保証いたします。

ただし、下記の不具合は保証の対象外といたします。

- 不適切な操作によって生じた不具合。
- 日本ジェネティクス株式会社又は認定代理店以外の者が実施した修理又は改修。
- 代替部品の代用によって生じた損傷。
- 日本ジェネティクス株式会社以外の者が提供した備品又は予備部品の使用による不具合。
- 事故又は誤用によって生じた損傷。
- 災害によって生じた損傷。
- 不適切な溶媒又は試料によって生じた腐食。

修理サービスについてお問合せ又はご要望がありましたら、日本ジェネティクス株式会社又はお近くの販売店にご連絡ください。

その際、お客様の使用機器のモデルと製造番号に関する情報をお知らせください。

1.5 規制上の告知

本製品は絶対に改造しないでください。改造した場合、以下の通りとなります。

- メーカー保証が無効になります。
- 安全を脅かす危険が生じる可能性があります。

本機器の用途以外での使用、又は日本ジェネティクス株式会社又は認定代理店以外の者が実施した本機器の改修により生じた傷害又は損害に対して責任を負いません。

1.6 仕様

寸法	180 mm (W)×140 mm (D)×160 mm (H)
適合ゲルカセットサイズ	10 cm×8 cm、10 cm×10 cm
泳動バッファの必要量	<ul style="list-style-type: none"> ゲルチャンバー：各200 mL チャンバータンク：2ゲル泳動時 530 mL 4ゲル泳動時 970 mL
泳動可能枚数	1～4枚
最大電圧	600 V ※最大電圧を超える出力で使用しないでください

2. 構成

2.1 構成品の確認

ご使用いただく前に構成品がすべてそろっているか、ご確認ください。
不足しているものがあつたり、問題があつた場合は、日本ジェネティクス（株）またはご購入の販売店までご連絡ください。

2.2 構成品一覧

	Cat.No.	構成品	数量
本体	NE-PG 14	ケーブル付きタンクカバー	1
	NE-PG05	チャンバータンク（下部バッファ槽）	1
	NE-PG 11	電極付きゲルチャンバー（上部バッファ槽）	1
	NE-PG 12	ゲルチャンバー（上部バッファ槽）	1
	NE-PG 13	プラスチックダミープレート（ロング）	1
	NE-PG 23	プラスチックダミープレート（ショート）	1
	NE-PG 19	U字型パッキン FastGene™（10 cm×8 cmゲル：FastGene™ プレキャストゲル用）	4
	NE-PG 18	U字型パッキン ショート （10 cm×8 cmゲル：BIO-RAD社 ミニプロティアンプレキャストゲル および自作ゲル用）	4
	NE-PG 20	U字型パッキン ロング（10 cm×10 cmゲル：ThermoFisher社ミニゲル用）	4
	NE-PG 17	ゲルシャベル	5
自作ゲル キット （1 mm厚）	NE-PG 21	ゲル作製スタンド	4
	NE-PG 22	ゲル作製クリップ	4
	NE-PG 07	シールガasket	5
	—	コーム 10ウェル（1 mmゲル用）	5
	—	コーム 15ウェル（1 mmゲル用）	5
	—	ガラスプレート ロング（1 mmゲル用）	5
	NE-PG 04	ガラスプレート ショート	10
	NE-PG 24	ガラスプレートホルダー	1
NE-PG 25	チューブホルダー	1	

2.3 構成品詳細

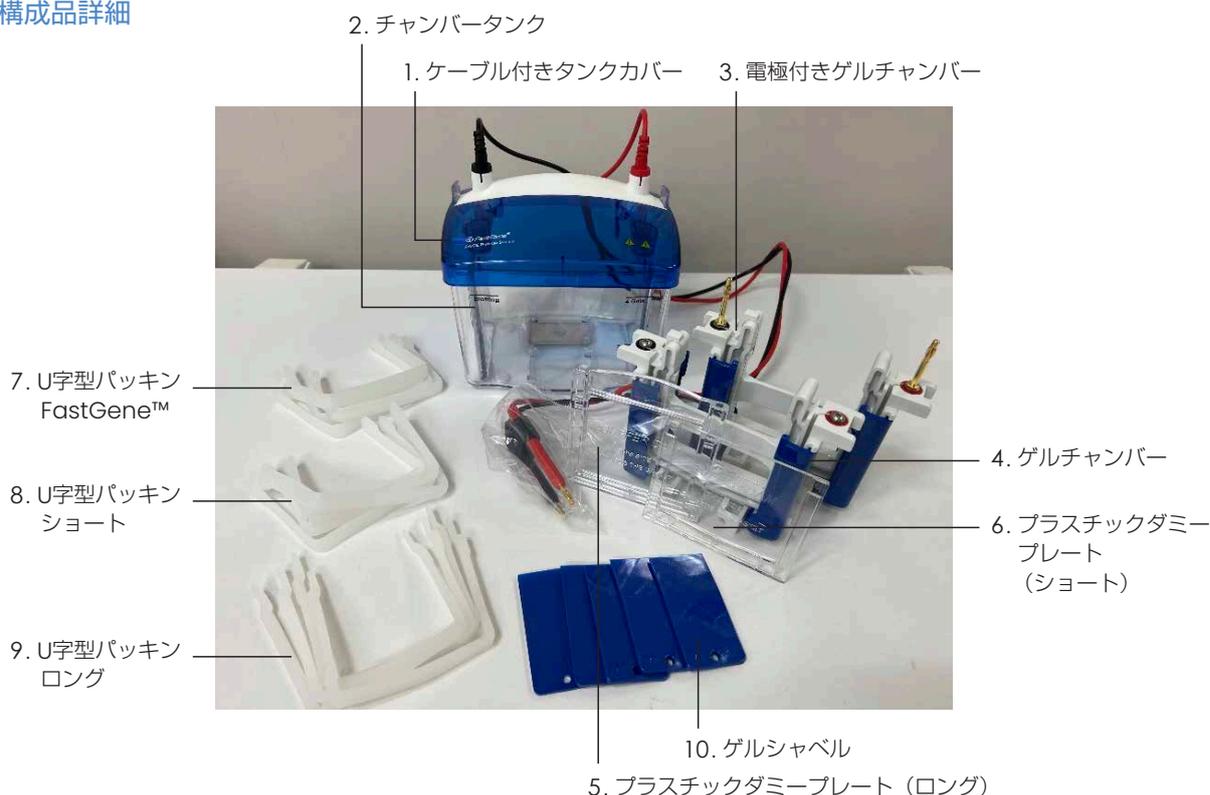


図1：PAGE システムのコンポーネント

本体構成品

- 1. ケーブル付きタンクカバー**
チャンバータンクにかぶせるカバーです。赤ケーブルと黒ケーブルが付いています。
泳動時は、電極付きゲルチャンバーの接続部の色を合わせて接続してください。
- 2. チャンバータンク（下部バッファ槽）**
一番外側に位置するバッファ槽です。ゲルチャンバーを2つ、ゲルとしては最大4枚までセットすることが可能です。
電気泳動の際はバッファを満たして使用します。
- 3. 電極付きゲルチャンバー（上部バッファ槽）**
ゲルを2枚セットすることにより、泳動に必要なバッファをためる槽が出来ます。
ゲルを1枚しか使用しないときは、プラスチックダミーを使用します。
泳動時は、ゲルチャンバーについている電極とカバーについているケーブルと接続します。
- 4. ゲルチャンバー（上部バッファ槽）**
ゲルを2枚セットすることにより、泳動に必要なバッファをためる槽が出来ます。
ゲルを1枚しか使用しないときは、プラスチックダミープレートを使用します。
電極がついていないため、単独での使用はできません。
- 5. プラスチックダミープレート（ロング）**
1枚または3枚のゲルで泳動を行う際、ゲルの代わりに使用します。
ゲルのサイズに合わせて、ロングサイズとショートサイズがあります。
- 6. プラスチックダミープレート（ショート）**
1枚または3枚のゲルで泳動を行う際、ゲルの代わりに使用します。
ゲルのサイズに合わせて、ロングサイズとショートサイズがあります。
- 7. U字型パッキン FastGene™（10 cm×8 cmゲル：FastGene™ プレキャストゲル用）**
- 8. U字型パッキン ショート（10 cm×8 cmゲル：BIO-RAD社 ミニプロティアンプレキャストゲル および自作ゲル用）**
- 9. U字型パッキン ロング（10 cm×10 cmゲル：ThermoFisher社ミニゲル用）**
ゲルチャンバーとゲルカセットの隅間を密着させるパッキンの役割を果たします。
ゲルのサイズやタイプによって、適合するU字型パッキンが異なります。
互換性については、10ページ「3.2.1 U字型パッキンの選択」をご覧ください。
- 10. ゲルシャベル**
泳動後のゲルをガラスプレートから外す際に使用します。

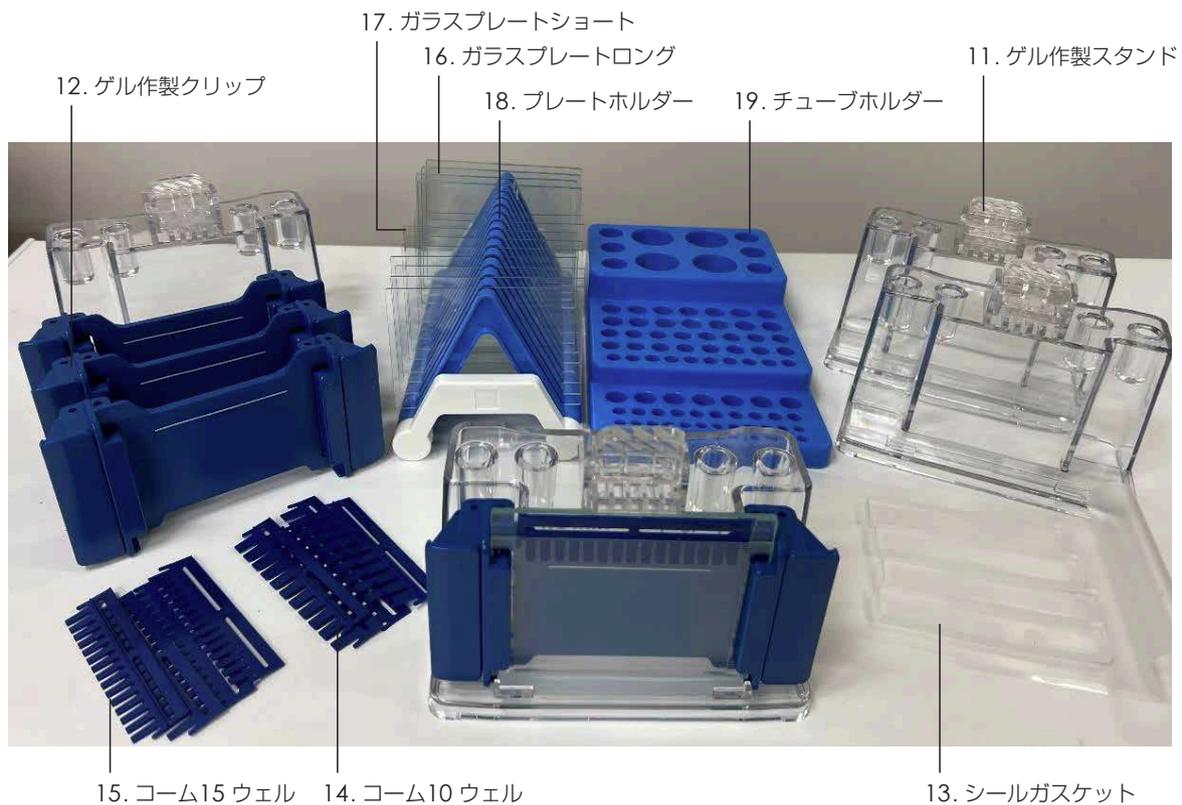
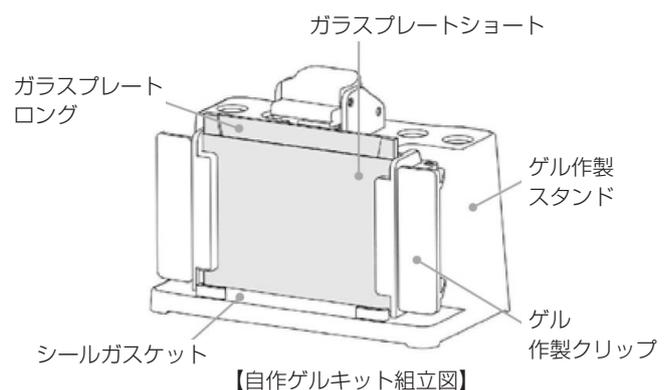


図2: 自作ゲルキットのコンポーネント

自作ゲルキット構成

11. ゲル作製スタンド
ゲル作製の際に、ゲルが漏れないようシールガスケットにガラスプレートを上から押さえつける役割を果たします。
12. ゲル作製クリップ
2枚に合わせたガラスプレートがずれないように、しっかりと固定するためのクリップです。
13. シールガスケット
ゲル作製時にゲルが下から漏れないようにするためのクッション材です。
14. コーム10 ウェル (1 mm ゲル用)
ゲル作製時にガラスプレートの上に差し込むことで、サンプルをアプライするためのウェルを形成します。
15. コーム15ウェル (1 mm ゲル用)
ゲル作製時にガラスプレートの上に差し込むことで、サンプルをアプライするためのウェルを形成します。
16. ガラスプレートロング (1 mm ゲル用)
ゲルを作成するためのスペースを確保するガラスプレートです。
付属のガラスプレートロングは1 mm 厚のゲル用ですが、別売りで0.75 mm、1.5 mm 用もあります。
17. ガラスプレートショート
ガラスプレートロングの対となるガラスプレートです。
18. プレートホルダー
ガラスプレートを立てて保管できるホルダーです。
19. チューブホルダー
チューブを保管できます。



3. 使用方法

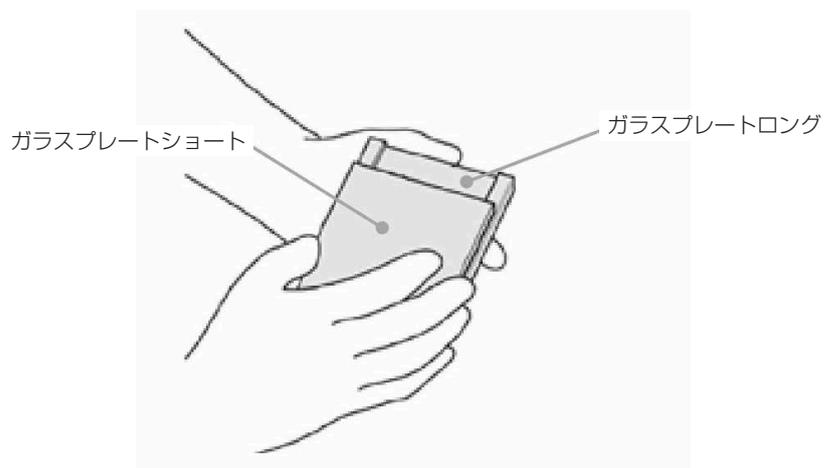
3.1 自作ゲルの作製

本項では、自作ゲルキットを使用したゲルの作製方法をご案内いたします。

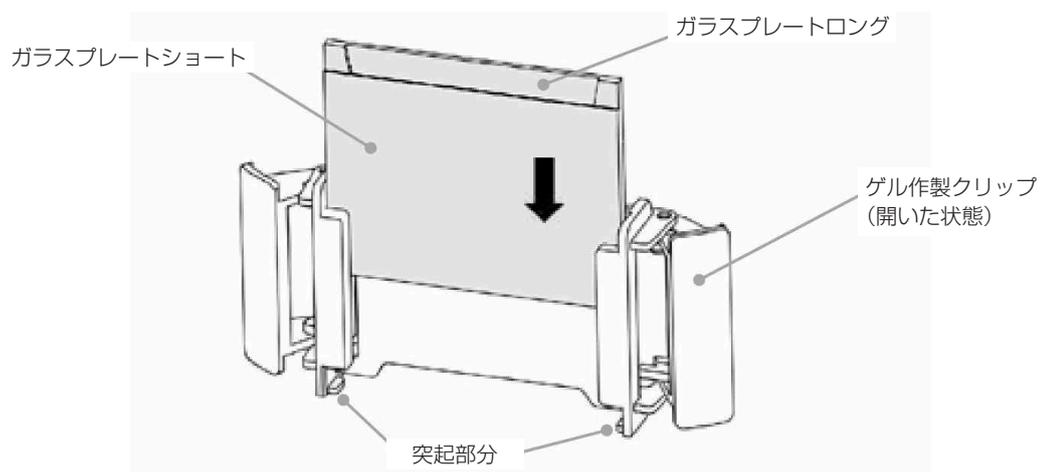
※プレキャストゲルを使用する場合は、このセクションをスキップして、10ページ「3.2 PAGEプロテインシステムの操作」に進んでください。

3.1.1 自作ゲルキットの組み立て

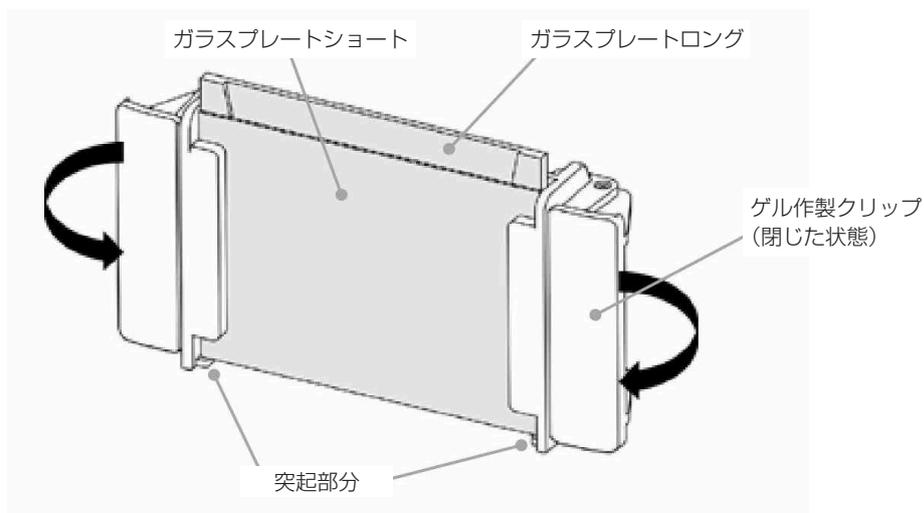
① ガラスプレートロングの凹凸がある面を上にして、ガラスプレートショートを合わせます。



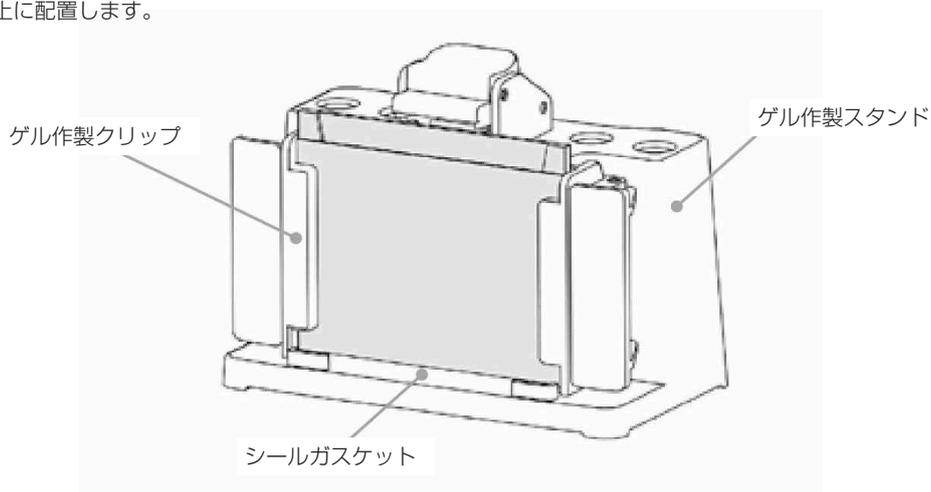
② ゲル作製クリップを平らなところに置き、クリップを開いた状態にします。ガラスプレートショートを手前にして、上からスライドさせながら、突起部分に乗せるように配置します。



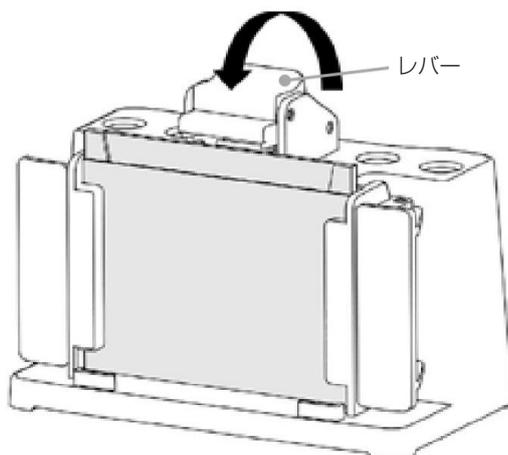
- ③ ガラスプレートが突起部分にのっていることを確認し、両側のクリップを閉じます。
※ガラスプレートが水平で、かつゲル作製クリップの底部にぴったりと合っていることを確認、必要に応じて調整します。
ずれ等があると、ゲル溶液が漏れる可能性があります。



- ④ ゲル作製スタンドの前方にある長方形のスペースにシールガスケットを置き、ガラスプレートを設置したゲル作製クリップをシールガスケットの上に配置します。



- ⑤ 上部にあるレバーを手前に引いて、ガラスプレートとゲル作製クリップをゲル作製スタンドに固定します。



- ⑥ ゲル作製に進みます。複数枚のゲルを作成する場合は、手順①～⑤を繰り返します。

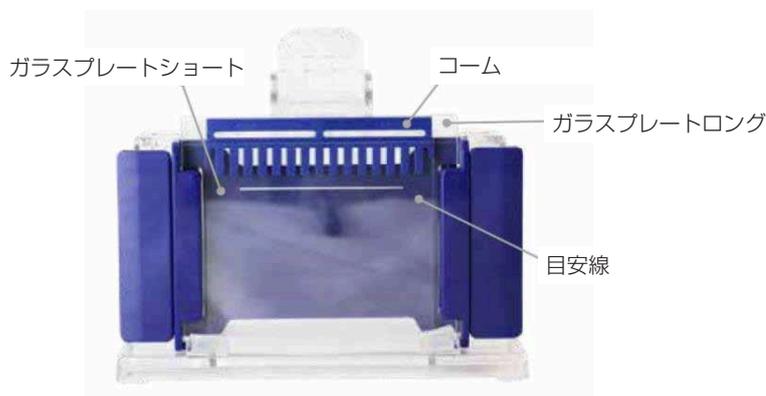
3.1.2 ポリアクリルアミドゲルの作製

- ① 以下の組成表に従って、4%の濃縮ゲル、12%または任意の濃度の分離ゲルを調整します。
 ※TEMED と APS については、加えるとゲル化が始まるので、まだ添加しないでください。

組成	濃縮ゲル			終濃度
	4%	12%	分離ゲル 任意の濃度 (15 mLの場合)	
30% アクリルアミド/ビス	0.8 mL	6 mL	0.5×任意の濃度 (%) mL ※10%の場合 [0.5×10=5 mL]	-----
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	1.5 mL	-----	-----	0.125 M
1.5 M Tris-HCl, pH 8.8	-----	3.75 mL	3.75 mL	0.375 M
10% SDS	60 µL	150 µL	150 µL	0.10%
精製水	3.604 mL	5.01 mL	11.01 mL-アクリルアミド添加量	-----
TEMED	6 µL	15 µL	15 µL	0.10%
10% APS	30 µL	75 µL	75 µL	0.05%
合計	6 mL	15 mL	15 mL	

※

- ② TEMED と APS を加えていないポリアクリルアミドゲル溶液を脱気、その間に自作ゲルキットを準備します (3.1.1 自作ゲルキットの組み立てを参照)。



- ③ 脱気した分離ゲル溶液に TEMED と APS を加えて重合を開始させます。溶液中に気泡が入らないよう、容器を静かに回して混合します。次にガラスピペットを使用して、ガラスプレートの間に分離ゲル溶液を注ぎます。注ぐ際に気泡が入らないように注意してください。
 ※ゲル作製クリップに分離ゲルの目安線があるので参考にしてください。
- ④ 直ちに100% 2-プロパノール (イソプロピルアルコール) または水飽和-1ブタノールで分離ゲルを覆います。分離ゲル溶液を45 ~ 60分間重合させた後、溶媒を捨て、分離ゲルの上部を脱イオン水で洗浄します。
- ⑤ 濃縮ゲルを注入する前に、ペーパー等を使用して分離ゲルの上部の水分を除きます。
- ⑥ 脱気した濃縮ゲル溶液に TEMED と APS を加えて重合を開始させます。溶液中に気泡が入らないよう、容器を静かに回して混合します。次に濃縮ゲル溶液を、分離ゲルの上に注ぎます。注ぐ際に気泡が入らないように注意してください。コームの下部に空気が入らないように、慎重にゆっくりと奥までとコームを差し込みます。
- ⑦ 濃縮ゲルを30 ~ 45分重合させます。重合後、すぐに使用しない場合は袋などに入れて密閉し、4℃で保管してください。

ワンポイント

- 使用前にガラスプレートやコームをエタノールできれいに拭いてください。
- APSは都度調整を行ってください。
- 3か月以上経過したTEMEDの使用は避けてください。
- ゲルの長期保管、凍結はおやめください。

3.2 PAGE プロテインシステムの操作方法

3.2.1 U字型パッキンの選択

FastGene™ PAGE プロテイン システムは、自作ゲルはもちろん、弊社ブランドFastGene™ プレキャストゲルや、他社プレキャストゲルと互換性があります。

各社プレキャストゲルに対応するため、3種類のU字型パッキンが付属していますので、以下に記載の表をご確認の上、ご使用のゲルに適したU字型パッキンをご選択ください。



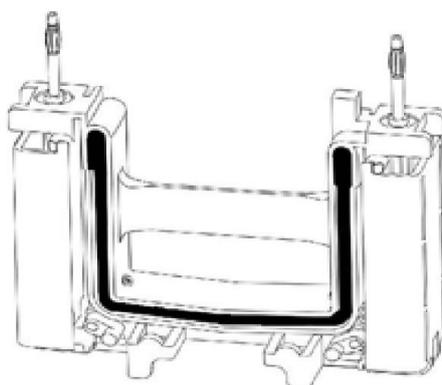
	U字型パッキン FastGene™	U字型パッキン ショート	U字型パッキン ロング
対象ゲルカセット サイズ	10×8 cm	10×8 cm	10×10 cm
適合ゲル例	FastGene™ プレキャストゲル	BIO-RAD社 ミニプロテインプレキャストゲル 自作ゲル	Thermo Fisher社ミニゲル

3.2.2 ゲルチャンバーの組み立て

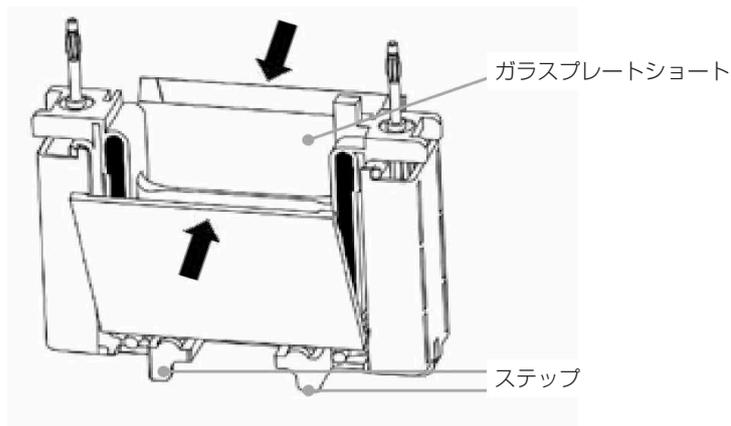
1から2枚のゲルを使用して泳動する場合は、必ず電極付きゲルチャンバーをご使用ください。

3から4枚のゲルを使用する場合は電極付きゲルチャンバーに加えて、電極のないゲルチャンバーを追加でご使用ください。電極のないゲルチャンバーだけでは電気泳動を行うことはできません。

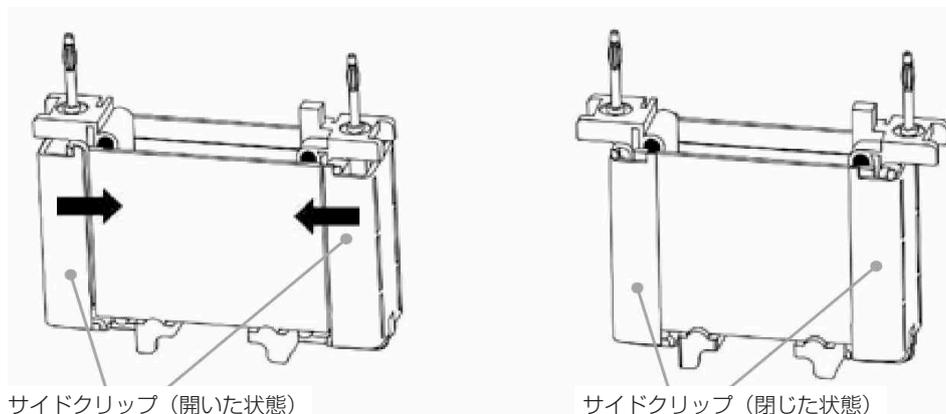
- ① 互換性のあるU字型パッキンをゲルチャンバーにセットした後、ゲルチャンバーを平らなところに置きます。



- ② ゲルからコームを取り外し、ゲルカセットまたはダミープレート、ガラスプレートショートが内側になるよう向かい合わせに配置します。その際、ゲルカセットまたはプラスチックダミープレートはゲルチャンバーの下部にある2つのステップに置いてください。

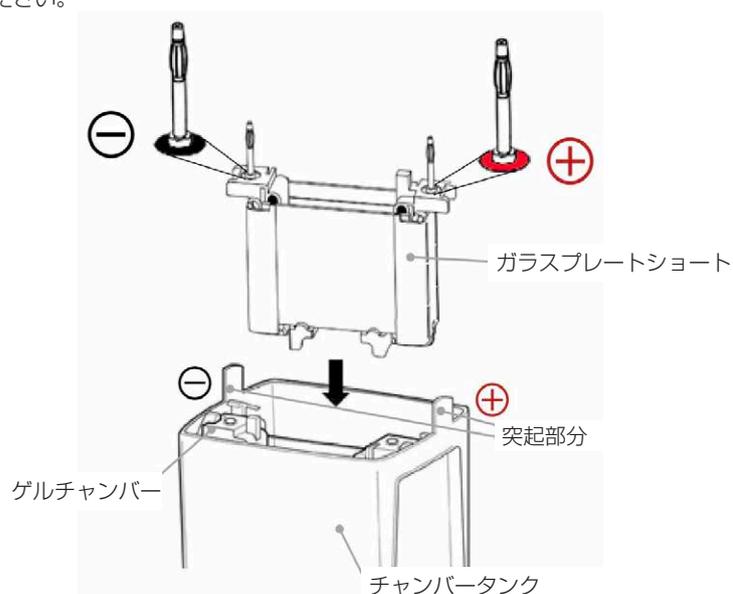


- ③ ゲルチャンバーの両側にある2つのサイドクリップを内側に向かってスライドさせて、ゲルカセットをゲルチャンバーに固定します。



3.2.3 チャンバータンクへのセッティング

- ① 電極付きゲルチャンバーをチャンバータンクのプラスチックの突起部分が付いている側にセットします。電極のないゲルチャンバーは突起部分が付いていない側に配置します。ゲルチャンバーの赤色端子と黒色端子が、チャンバータンクに記されている印と一致していることを確認してください。



- ② ゲルチャンバーとチャンバータンクに泳動バッファを注ぎます。
ゲルチャンバーは容量ギリギリまで、チャンバータンクには目安線に従って泳動バッファを満たします。

3.2.4 サンプルの準備

サンプルはあらかじめSDS、メルカプトエタノールなどを含んだサンプルバッファーと混合して、熱処理を行ってください。

3.2.5 サンプルのアプライ

調製したサンプルをゲルにアプライしてください。サンプルをアプライする際は、ゆっくりと慎重にウェルの底まで沈めるようにしてください。タンパク質バンドのサイズを推定できるようにするため、タンパク質マーカールも合わせてゲルにアプライします。

FastGene™ 自作ゲルキットの最大ウェル容量の目安を次の表に示します。

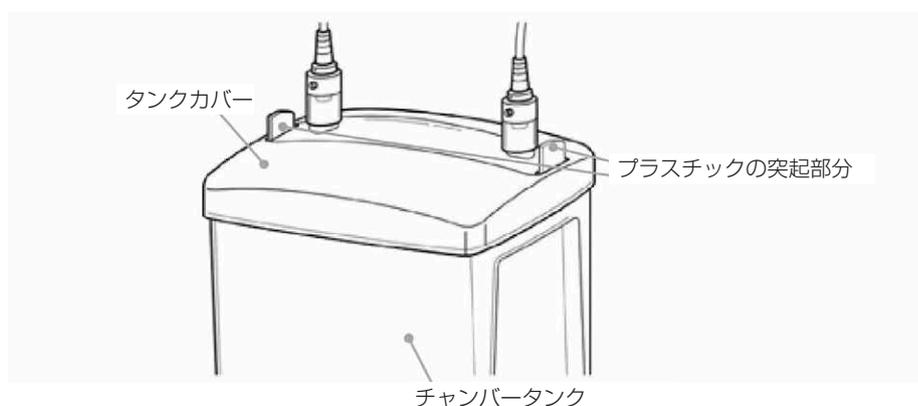
ウェル数	ウェル幅	ウェル容量		
		0.75 mm	1.0 mm	1.5 mm
10	5.1 mm	33 μ L	44 μ L	66 μ L
15	3.4 mm	20 μ L	26 μ L	40 μ L

ワンポイント

- ゲルの詰まりを防ぐため、アプライする前にサンプルを遠心分離し、不溶性粒子などを沈殿させて上清を使用します。
- スマイリングを防ぐため、サンプルをアプライする前にウェルを泳動バッファーで洗います。

3.2.6 電気泳動の実行

- ① サンプルとマーカールをゲルにアプライした後、タンクカバーを閉めます。ゲルチャンバーがチャンバータンクに正しくセッティングされている場合にのみ、タンクカバーを取り付けることができます。チャンバータンクのプラスチックの突起部分が、タンクカバーの両側の隙間から出ていることを確認します。



- ② タンクカバーの電極を電気泳動用のパワーサプライに接続し、200 V の定電圧で電気泳動を行います（泳動時間目安：30 ~ 45分）。電気泳動終了後はパワーサプライの電源を切り、電極を外してください。
※装置のフタは安全設計になっています。フタを外すと電流は流れないようにしていますが、事故防止のため、装置に触れる際は必ずパワーサプライの電源を切ってください。
※最大電圧である600 Vを超える電圧で泳動しないでください。
- ③ タンクカバーを開け、チャンバータンクからゲルチャンバーを取り出し、泳動バッファーを廃棄します。
サイドクリップをスライドさせて開き、ゲルカセットを取り外します。ゲルカセットの2枚のガラスプレートを剥がし、慎重にゲルを取り出します。取り出したゲルは染色やウエスタンブロットング等を行い、目的のバンドを確認します。
- ④ 泳動バッファーを廃棄し、ゲルチャンバー、U字型パッキン、およびチャンバータンクを蒸留水で洗浄します。
※泳動バッファーは再利用しないでください。

4. トラブルシューティング

ゲル作製：

問題	原因	対策
ゲル作製の際にゲル溶液が漏れる	ガラスプレートが割れている	ガラスプレートに割れや欠けがないことを確認する
	2枚のプレートが正しい位置で合っていない	ガラスプレートが正しく位置合わせされていることを確認する
	シールガスケットに亀裂が入っている	シールガスケットを新しいものに交換する
ウェルが十分に形成されない	触媒 (APS、TEMED) が劣化している	・触媒 (APS、TEMED) を新しく調製する ・触媒 (APS、TEMED) の濃度を20%増やす
	ゲル溶液が脱気されていない	ゲル溶液を脱気する
ゲルが固まらない	触媒 (APS、TEMED) が劣化している	・触媒 (APS、TEMED) を新しく調製する ・触媒 (APS、TEMED) の濃度を20%増やす
	ゲル溶液が脱気されていない	ゲル溶液を脱気する
	温度が低すぎる	室温でゲル作製を行う
ゲルの固まり方が不均一、重合が速すぎる	触媒 (APS、TEMED) の添加量が多すぎる	触媒濃度 (APS、TEMED) を20%程度下げる
ゲルの固まり方が不均一、重合が遅い	触媒が活性化していない	・触媒 (APS、TEMED) を新しく調製する ・触媒 (APS、TEMED) の濃度を20%増やす
ゲルが柔らかすぎる	アクリルアミド/ビスの添加量が少ない	アクリルアミド/ビスの添加量を増やす

サンプルのロード：

問題	原因	対策
サンプルがウェルから浮いてしまう	サンプル中のグリセロールが不十分	サンプル中のグリセロール濃度を10%に増やす
	サンプルのロード速度がはやすぎる	ゲルローディングチップを使用し、ゆっくりと慎重にサンプルをロードする

ゲル電気泳動：

問題	原因	対策
ゲルに通電されず、泳動が進まない	ゲルチャンバーまたはチャンバータンク内の泳動バッファースが少なすぎる	・ゲルチャンバー内を完全に泳動バッファースで満たす ・チャンバータンクの目安線まで泳動バッファースを注ぐ
	プレキャストゲルのシーリングテープがはがされていない	プレキャストゲルのシーリングテープを剥がす
泳動速度が速すぎる	泳動バッファースの濃度が低すぎる	泳動バッファースの濃度を確認し、新しく調製する
	電圧が高すぎる	電圧を50%下げる

問題	原因	対策
泳動速度が遅すぎる	泳動バッファの濃度が高すぎる	泳動バッファの濃度を確認し、新しく調製する
	サンプルの塩濃度が高すぎる	サンプルの塩濃度を下げる
チャンバーから泳動バッファが漏れる	PAGEプロテインシステムの組み立てが間違っている	PAGEプロテインシステムの組み立てを確認して、U字型パッキンが正しく装着されていることを確認する
	U字型パッキンが間違っている/破損している	<ul style="list-style-type: none"> ・ 互換性のあるU字型パッキンを使用する ・ U字型パッキンに亀裂がないか確認し、破損している場合は新しいものに交換する

タンパク質の分離：

問題	原因	対策
バンドが拡散している	温度が高すぎる	電圧を下げるか、低温条件で泳動する
スマイリングしている (ゲルの両端のバンドが上がる)	温度が高すぎる	電圧を下げるか、低温条件で泳動する
	泳動バッファが少なすぎる	ゲルチャンバーが泳動バッファで完全に満たされ、ウェルが泳動バッファで覆われていることを確認します
	ウェルの中の泳動バッファの濃度が異なっている	ウェルを泳動バッファで洗い流す
	サンプル量が多すぎる	サンプルのアプライ量を減らす
	サンプルの塩などの濃度が高すぎる	サンプルの塩濃度を確認/下げる
バンドがゆがむ	サンプルの塩、界面活性剤、溶媒などの濃度が高すぎる	サンプルの塩、界面活性剤、溶媒などの濃度を確認/下げる
	泳動前の時点でサンプルが拡散した	サンプルをアプライしてすぐに泳動を開始する
	濃縮ゲル内でのバンド拡散	<ul style="list-style-type: none"> ・ 濃縮ゲルの濃度を4%から4.5%に上げる ・ バンドが濃縮ゲルを移動している間は電圧を25%上げる
	ゲルの境界面に凹凸がある	<ul style="list-style-type: none"> ・ 触媒濃度（APSおよびTEMED）を20%下げて重合速度を遅くする ・ 濃縮ゲルの重層を注意深く行う
縦筋が入る	サンプル量が多すぎる	サンプルのアプライ量を減らす
	サンプルに沈殿が生じている	サンプルをアプライする前に遠心分離を行い、上清を使用する



日本ジェネティクス株式会社 〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階
<https://n-genetics.com> ☎ info@genetics-n.co.jp ☎ 03 (3813) 0961 ☎ 03 (3813) 0962