

高度研究機器部門は研究施設・設備の共同利用の推進・充実にすることを目的に1988年（当時は研究機器センター、2010年に改称）に設立しました。

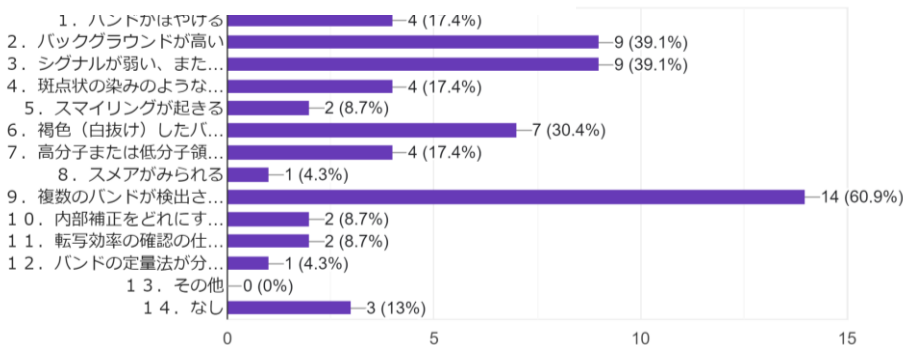
このような取り組みを皆様にご協力いただき推進するために、ニュースレターを作成しました。本学の研究者にとって有益な情報を発信していきたいと考えておりますのでよろしくお願いいたします。

ウェスタン分析アンケート結果発表

7月（実施期間7/7-7/31）に高度研究機器登録者（342名）にメール配布したアンケート結果を掲載いたします。今回は研究で幅広く使用されているウェスタン分析についてです。ご協力いただいた23名の皆様、誠にありがとうございました！！

Q1.これまでウェスタンブロッティングをしていて困っていることはありますか？当てはまる項目に○をつけてください。（複数回答可）

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> 1. バンドがぼやける | <input type="checkbox"/> 8. スミアがみられる |
| <input type="checkbox"/> 2. バックグラウンドが高い | <input type="checkbox"/> 9. 複数のバンドが検出されるまたは非特異的な結合がみられる |
| <input type="checkbox"/> 3. シグナルが弱い、または検出されない | <input type="checkbox"/> 10. 内部補正をどれにすればよいかわからない |
| <input type="checkbox"/> 4. 斑点状の染みのようなプロットがみられる | <input type="checkbox"/> 11. 転写効率の確認の仕方がわからない |
| <input type="checkbox"/> 5. スマイリングが起きる | <input type="checkbox"/> 12. バンドの定量法が分からない |
| <input type="checkbox"/> 6. 褐色（白抜け）したバンドが認められる | <input type="checkbox"/> 13. その他 |
| <input type="checkbox"/> 7. 高分子または低分子領域がうまく転写されない・分離が悪い | <input type="checkbox"/> 14. なし |



複数のバンドが検出または非特異的な結合が見られることに困っている方が多いようです

Q2.1-13のありと答え方、どのような解決をされましたか？現在も困っていますか？「その他」を答え方は具体的にはどのようなことですか？

困ってます！

- 現在も困っている。複数の抗体を使用したがいずれの抗体でも複数のバンドが出る
- 解決法は見いだせてません。転写ムラの解決法や、転写ムラが起きてるかどうかの確認法も教えてください

解決しました！

- タンパクの精製をしっかりした
- 大量のサンプルを用いて、ブロッキング濃度を上げ、高感度の化学発光剤を使用した
- ブロッキングからやり直したりexposureを延ばしたりした
- アプライ量を減らす、ECLを低感度で白抜けしにくいものに変える
- メンブレンを変えた ブロッキングミルクの濃度をあげた
- 抗体反応後に蒸留水で5回リンスしてバックグラウンド問題は解消できています。また抗体を薄くして反応時間を長くすることでバックグラウンドが低下し白抜けも解消されました。分離度の問題は泳動前にプレラシしたり、WIDE RANGEバッファーでゲルを作製して解消しています。転写効率は目的分子量に合わせてメタノール濃度を変えています。内部補正はGAPDHやActinは日内変動するので転写効率の確認方法である転写後のCBB染色の総蛋白質量で補正しており、その後脱色してブロッキングしています

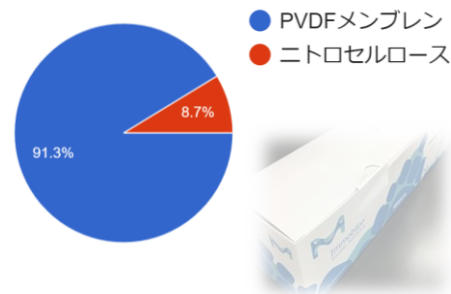
その他

- 特に困っていない
- 抗体による

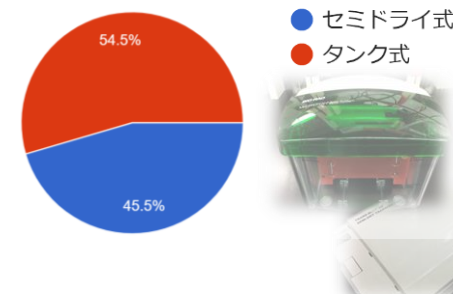


複数バンドや転写ムラでお困りの方いらっしゃるようです

Q3.ウェスタンメンブレンはどれをお使いですか？



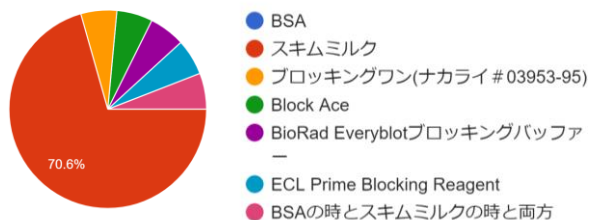
Q4.メンブレンへの転写はどれをお使いですか？



共用機器関連の情報はホームページで公開しています。ぜひご覧ください。
愛知医科大学ポータルサイト > 施設・設備利用 > 高度研究機器部門

問い合わせ
高度研究機器部門
TEL.12318（内線）事務室
sec2860@mail.aichi-med-u.ac.jp
（※@を◎に置き換えています）

Q5.ブロッキング剤はどれをお使いですか？



Q6.上記の質問で「その他」の場合ご記載ください

- Block Ace
- 抗体による
- Thermo fisherなどメーカー推奨のブロッキング剤。BSAも使用します。
- ナカライ Blocking one
- 1次抗体によってBSAとスキムの使い分け

Q7.よろしければブロッキング剤の使用濃度をご記載ください

- 0.5%・・・1人
- 2%・・・2人
- 5%・・・7人
- 原液・・・2人
- 1-10%・・・1人
- 10%抗体により1%まで下げる・・・1人
- 1~5%(抗体により変えているが大体3~5%)・・・1人
- 5~10%・・・1人

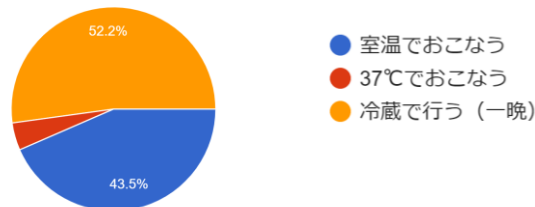
Q8.ウエスタン分析に使用されている緩衝液の種類について当てはまる項目を選択してください



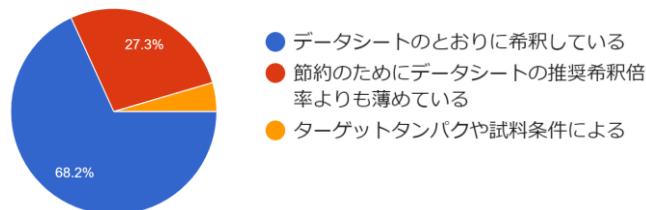
Q9.上記の質問で「その他」の場合ご記載ください

- 抗体による

Q10.一次抗体の反応条件について当てはまる項目を選択してください



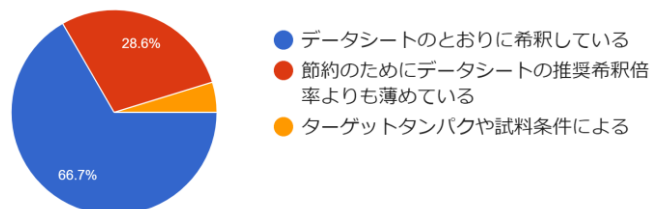
Q11.一次抗体の希釈倍率について当てはまる項目を選択してください



Q12.上記の質問で「その他」の場合ご記載ください

- ターゲットタンパクや試料条件による
- 抗体による

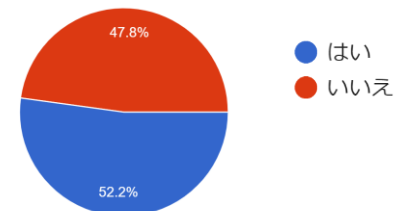
Q13.二次抗体の希釈倍率について当てはまる項目を選択してください



Q14.上記の質問で「その他」の場合ご記載ください

- ターゲットタンパクや試料条件による
- 高感度ECLのため、データシートより10倍希釈程度で使用している。
- 1次抗体による

Q15.ウエスタン分析について相談会・座談会が開催されたら参加してみたいですか？



Q16.機器・実験手法のセミナーのご希望があれば具体的に機器等の名称をご記入下さい

- qPCR, DNA シーケンサー
- Chip-seq
- 蛍光のウエスタン解析があれば半定量解析もできて良いと思います。例えばオデッセイなど。
- q-PCRを使用したSNPSの講習会
- in cell analyzer

今後のセミナー開催の参考にしたいと思います。
ご回答ありがとうございました！



アンケート結果いかがでしたでしょうか？

ウエスタン分析について皆様、様々な条件でされてますね。今回のアンケートのQ1, Q2の「困っている項目」について改善方法ご存知でしたら機器部門までお寄せ下さい。次号のニュースレターもしくはホームページ等に掲載して情報共有できればと思います。ニュースレターの感想もお待ちしております！



機器部門からお願い

機器ラインアップや支援体制の充実を図るためには、共同利用効果のアピールが必要です。高度研究機器部門設置の機器を使った研究成果の発表の際は、謝辞へ記載していただきますようお願い致します。また「公表論文リストの提出」もお願い致します。
✉提出先: 部門長 鈴木 進 E-mail: suzukis@aichi-med-u.ac.jp (※@を◎に置き換えています)