

# ImageJ を用いた western blotting band 定量 (バックグラウンド補正あり)

中原若辰

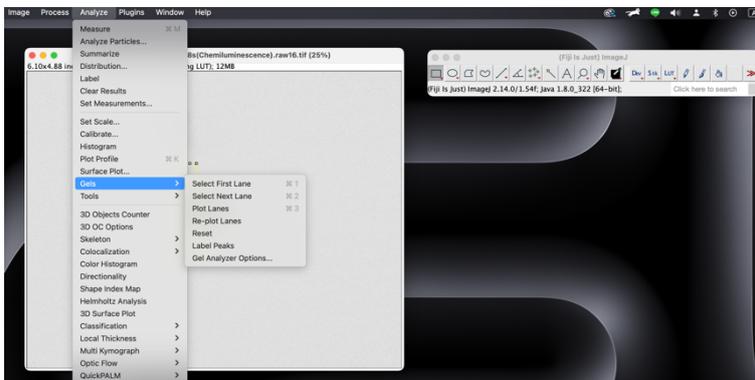
1.

ImageJ に撮影した housekeeping gene の .tif 画像 (raw) を読み込み、バックグラウンドを含めて定量したいバンドを長方形ツールで囲む。



2.

Analyze > Gels > Select First Lane (Mac の場合は⌘1 でも可)



3.

上下左右キーで次に囲みたいバンドに長方形を移動させる。



4.

Analyze > Gels > Select Next Lane (Mac の場合は⌘2 でも可)



5.

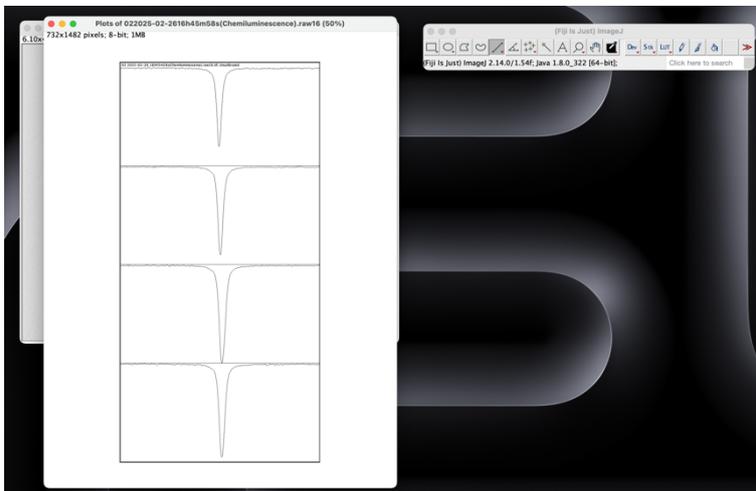
全てのバンドを囲むまで繰り返す。



6.

Analyze > Gels > Plot Lanes (Mac の場合は⌘3 でも可)

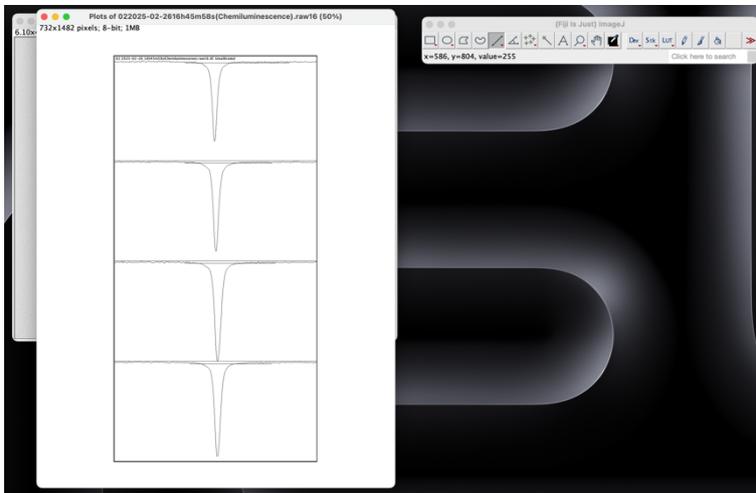
上向きもしくは下向きの山が生成される。どちら向きであっても定量に影響はない。



7.

直線ツールを用いて、バックグラウンドラインを水平に引く (バックグラウンド補正)。

この時、山が完全に線で囲われていないと次のステップで定量できないので注意。





10.

評価対象のバンドの値を **housekeeping gene** のバンドの値で割る。  
その後、コントロール細胞の値で割り、ノーマライズする。

sample	cell	guide	housekeeping gene	knockout gene	KO/ctrl	normalized by NT
1	cell 1	NT	6991.589	13795.238	1.97311913	1
2		KO	8585.539	2517.64	0.29324193	0.14861846
3	cell 2	NT	10874.196	17697.087	1.62743866	1
4		KO	9487.125	1728.497	0.18219397	0.111951361

