

Signal Booster

An immuno-reaction enhancing solution

取扱説明書

Beacle, Inc.
KYOTO JAPAN

--- 目次 ---

(1) はじめに	2
(2) 製品内容	2
(3) 一般的な使用方法	2
(4) ウェスタンブロッティング	3
(5) ELISA	3
(6) トラブルシューティング	4
(7) お問い合わせ先	4

ご注意

1. 本試薬は研究用試薬です。診断・臨床用試薬としては使用しないでください。
2. 本試薬は組成濃度が最適化されていますので、希釈やブロッキング剤の添加等を行うと本来の性能が出ない場合がありますので、ご注意ください。
3. 本試薬は Solution B の方が Solution A より僅かに黄色が強くなっています。変色ではありませんので、ご安心ください。

(1) はじめに

Signal Booster はウェスタンブロッティングや ELISA などの抗原・抗体反応を用いた解析でしばしば問題になる感度不足や高いバックグラウンドを改善するための反応促進試薬です。さまざまな免疫アッセイ系に用いることができます。

本製品の特長

1. 従来法に比べ高いシグナル・低いバックグラウンド

Signal Booster は、抗原抗体反応を促進する効果があり、界面活性剤含有バッファーを用いる従来法に比べ数倍から数十倍の高いシグナルを得ることができます。また、バックグラウンドが低くなるように設計されていますので、高い S/N 比を得ることができます。

2. 既存品に比べ高いシグナルを得ることが可能

Signal Booster は、高いシグナルが得られるように設計されていますので、多くの場合で既存品に比べ高いシグナルを得ることが出来ます。なお、このため従来の条件で行うとバックグラウンドが高くなる場合もありますので、使用時には抗体濃度や反応時間等を調節し、最適の条件でご使用ください。

3. 抗体使用量の節約や反応時間の短縮に効果

Signal Booster は、抗体使用量を減らしたい場合、少量の抗原を検出したい場合、検出時の検出時間を短くしたい場合などに有効です。

4. 高い汎用性

Signal Booster は、ウェスタンブロッティングや ELISA など抗原抗体反応を用いたさまざまなアッセイ系に広く用いることが可能です。また、HRP(ペルオキシダーゼ)や AP(アルカリフォスファターゼ)などの標識酵素の活性に影響を与えませんので、これらの標識抗体を用いたアッセイ系にも使用することができますし、発色検出、発光検出のいずれにも使用可能です。

5. 使用方法が容易

Signal Booster は、希釈せずにそのまま使用できるように調製されています。使用方法は、通常使用している抗体希釈液を本試薬へ替えるだけです。

(2) 製品内容

本製品には以下の種類があります。本マニュアルは以下の製品総てに適用されます。

製品番号 構成	BCL-101S	BCL-105	BCL-110	BCL-110 A, B	BCL-125	BCL-125 A, B
Solution A	20ml	50ml	100ml	A又はBの	250ml	A又はBの
Solution B	20ml	50ml	100ml	100 ml単品	250ml	250 ml単品

(3) 一般的な使用方法

- ・ 本試薬のセット品は、1次抗体反应用 Solution A と 2次抗体反应用 Solution B で構成されており、それぞれの反応に最適化された組成となっています。それぞれの抗体反応において本試薬により目的とする濃度に抗体を希釈し、そのままアッセイに用いてください。アッセイ方法は従来そのままで行って下さい。詳細は後述の使用方法をご覧ください。
- ・ 抗体を一種類しか用いないアッセイ系(1次抗体に標識が付加されている場合など)の場合は、Solution B の使用をお勧めします。但し、抗体の種類やアッセイ系によっては、Solution A を用いた方が良い場合もあります。詳細は後述の使用方法をご覧ください。
- ・ Signal Booster を使用して効果が見られた実験実績として以下のものがあります。ウェスタンブロッティング、抗体サンドイッチ ELISA (1次抗体標識型、2次抗体標識型)、抗原サイドイッチ ELISA (抗原標識型) など。

(4) ウェスタンブロットニング(WB)

WB 法は、SDS-PAGE など分離したタンパク質を、ニトロセルロース膜や PVDF(ポリフッ化ビニリデン)膜に転写し、特異的抗体を用いて検出する方法です。以下に、WB における Signal Booster の使用方法を記載します。

- 1) SDS-PAGE と PVDF 膜へのタンパク質転写は通常の方法により行って下さい。
- 2) ブロッキングやその後の洗浄も通常の方法で行って下さい。
- 3) 1 次抗体を Signal Booster の Solution A で希釈します。1 次抗体の最適な希釈倍率は、抗体種、抗原の量、検出系の感度等に大きく依存します。本試薬を用いた場合、通常用いる濃度より低い抗体濃度、或は短時間で十分な反応が得られる場合が多いですが、予備検討により最適濃度を決定ください。
- 4) 2 次抗体を Signal Booster の Solution B で希釈します。2 次抗体の最適な希釈倍率は、抗体種、抗原の量、検出系の感度等に大きく依存しますので、抗体の供給元の推奨条件等を参考にしてください。
- 5) 予め標識した 1 次抗体を用いる場合など、1 次抗体のみで検出する場合は、原則、Solution B を用いてください。抗体の種類によっては Solution A の方が良い結果を得られる場合がありますので、お試しください。
- 6) 検出は HRP や AP 標識抗体を用いる場合が多いですが、何れの場合も、発色・発光の度合いを見ながら反応・露光を止めてください。長時間の反応はバックグラウンドの上昇やエキストラバンドの出現を起こします。

(5) ELISA

ELISA 法は、酵素で標識された抗体あるいは抗原を用いて、試料溶液中にある抗原あるいは抗体の量を定量する方法です。特に、抗原に対する抗体を固相化し、抗原を含む試料溶液を加え、固相化抗体に結合した抗原を固相化抗体とは別の抗体(1 次抗体)と反応させ、最後に、1 次抗体に対する酵素標識 2 次抗体で検出する方法(1 次抗体を酵素標識して検出する場合もあります)、即ち、「抗体サンドイッチ法」は感度と特異性に優れているため、現在主流の ELISA 法です。なお、抗体を検出する際には抗原によるサイドイッチ法もあります。ここでは、「抗体サンドイッチ ELISA」における Signal Booster の使用方法を記載します。

- 1) 抗体の固相化とブロッキングは通常の方法により行って下さい。
- 2) 抗原を Signal Booster の Solution A で適宜希釈します。1 次抗体を Signal Booster の Solution A で希釈します。1 次抗体の最適希釈倍率は、抗体種、抗原の濃度、検出系の感度等に大きく依存しますので、抗体の供給元の推奨条件等を参考にしてください。これらを各ウェルに分注・混合し、インキュベーションします。インキュベーション後 PBS-T などで洗浄します。なお、抗原のみを反応させた後、プレートを洗浄してから 1 次抗体を反応させる方法もあります。
- 3) 2 次抗体を Signal Booster の Solution B で希釈します。2 次抗体の最適希釈倍率は、抗体、抗原の濃度、検出系の感度等に大きく依存しますので、抗体の供給元の推奨条件等を参考にしてください。2 次抗体希釈液をウェルに分注し、インキュベーション後、PBS-T 等で洗浄します。
- 4) 酵素標識した 1 次抗体を用いる場合、標識 2 次抗体は用いませんが、その場合には 1 次抗体は Solution B で希釈ください。なお、場合によっては Solution A の方が良い結果を得られる場合がありますのでお試しください。
- 5) 検出は HRP や AP 標識抗体を用いる場合が多いですが、何れの場合も、予め予備実験により発色の度合いを見ながら反応時間を決定してください。長時間の反応はバックグラウンドを高くします。

(6) トラブルシューティング

トラブル	原因と対策
ウェスタンブロットニング	
シグナルが弱い	<ol style="list-style-type: none"> 1. 抗原タンパク質濃度が低い。できる限り濃い試料を電気泳動してください。 2. 抗体濃度が低い。最適な抗体濃度を検討してください。 3. 膜への転写が不十分。電流量を上げるか、転写時間を延長してください。 4. ブロッキングが強すぎる。オーバーナイトなどでブロッキングを強くしすぎるとシグナルが弱くなる場合があります。 5. 膜への転写時間・電流量が過剰。特にニトロセルロース膜使用時には、過剰な転写操作により、タンパク質が透過する場合があります。電流量や時間を調節してください。膜の種類を PVDF に代えるのも有効です。
バンドの一部が抜ける(発光検出)	<ol style="list-style-type: none"> 5. 抗原量が多すぎる、あるいは抗体濃度が高すぎる。過剰なシグナルにより逆に発光が抑えられてしまうことがあります。最適な抗原量・抗体濃度を検討してください。
エキストラバンドが多い	<ol style="list-style-type: none"> 6. 抗体濃度が高すぎる。過剰な抗体により、非特異的なシグナルが増大することがあります。最適な抗体濃度を検討してください。 7. タンパク質量が多すぎる。電気泳動するタンパク質量を減らしてください。 8. ブロッキングが不十分。抗原や抗体によっては、ブロッキング剤に大きく依存します。ブロッキング剤の種類、濃度やブロッキング時間の検討を行ってください。 9. 洗浄が不十分。洗浄回数や洗浄時間を増やしてください。
バックグラウンドが高い	<ol style="list-style-type: none"> 10. 抗体濃度が高い、或いはインキュベーション時間が長い。シグナルが見えるがバックグラウンドも高い場合、抗体濃度を低くするか、抗体との反応時間を短くしてください。
ELISA	
シグナルが弱い	<ol style="list-style-type: none"> 1. 抗原または抗体の濃度が低すぎる。抗原・抗体濃度の検討を行ってください。
シグナルが強すぎる	<ol style="list-style-type: none"> 2. 抗原または抗体の濃度が高すぎる。抗原・抗体濃度の条件検討(タイトレーション)を行ってください。 3. インキュベーション時間が長すぎる。時間を短くしてください。
バックグラウンドが高い	<ol style="list-style-type: none"> 4. 抗原または抗体の濃度が高い。抗原・抗体濃度の検討を行ってください。 5. ブロッキングが不十分。抗原・抗体種によっては、ブロッキング剤の種類や濃度に大きく依存します。ブロッキング剤の種類、濃度、ブロッキング時間を検討してください。 6. 洗浄が不十分か、過剰洗浄によるブロッキング効果の低下が考えられます。洗浄回数を調節してください。

(7) お問い合わせ先

株式会社ビークル【製造発売元】

〒607-8465 京都市山科区上花山坂尻 25 近畿ビル 13 号

TEL: 075-582-8505 FAX: 075-582-6055

E-mail: technical-support@beacle.com

Website: www.beacle.com

