

Can Get Signal[®] シリーズ

ウェスタンプロッティング、ELISA、
免疫組織染色の感度不足、特異性を改善します

東洋紡績株式会社 川井 淳

Can Get Signal[®] シリーズは、ウェスタンプロッティングや ELISA、免疫組織染色、蛍光免疫染色などでしばしば問題となる「感度不足」や「高いバックグラウンド」を改善するために開発された免疫アッセイ用の反応促進試薬です。ご使用方法は、現在お使いの TBS-T などの抗体反応用のバッファーを本試薬へ置き換えるだけです。

ウェスタンプロッティング・ELISA

Can Get Signal[®] immunoreaction enhancer solution (以下、Can Get Signal[®]) は、ウェスタンプロッティング (WB) や ELISA の感度を向上させるとともに、バックグラウンドを抑える働きを有する抗原抗体反応用バッファーです。WB で

の使用法は、図 1 に示したように、Can Get Signal[®] に抗体を希釈し、プロッキング後の膜と反応させるだけです。1 次抗体反応には Solution 1 を、2 次（標識）抗体反応には Solution 2 を使用します。

図 2 は、ヒスチジンタグ融合タンパク質を WB で検出した例を示しています。従来法と比較した結果、Can Get Signal[®]

を用いることによって大幅な感度の向上が認められました。本試薬は、ヒスチジンタグやリン酸化タンパク質など、反応性の高い抗体が得られにくい抗体で効果が高いことがわかっています。

プロッキング条件、および検出条件などは現在使用している方法をそのまま使うことができるのも、本試薬の特長の 1 つです。特に、プロッキングのステップは、スキムミルクや BSA などから適切なものを検討することで、さらに良好な結果を得ることができます。

Solution 1 は、ELISA の固相抗体と抗原との反応にも用いることができます。

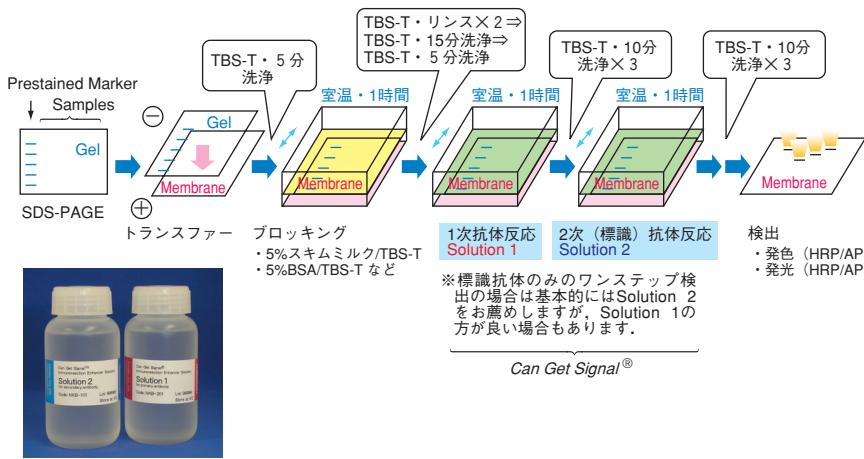


図 1 ●Can Get Signal[®] を用いる WB の実験フロー

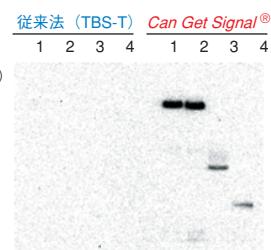


図 2 ●WB 解析によるヒスチジンタグ融合タンパク質検出の比較

6 × His 配列を有する 4 種類のタンパク質を従来法 (TBS-T に抗体を溶解) と Can Get Signal[®] を用いる方法で比較した。

1 次抗体：抗 His-tag rabbit polyclonal antibody (1:2,000 希釀)。
2 次抗体：HRP 標識抗 rabbit IgG antibody (1:20,000 希釀)。

プロッキング：5% スキムミルク/TBS-T

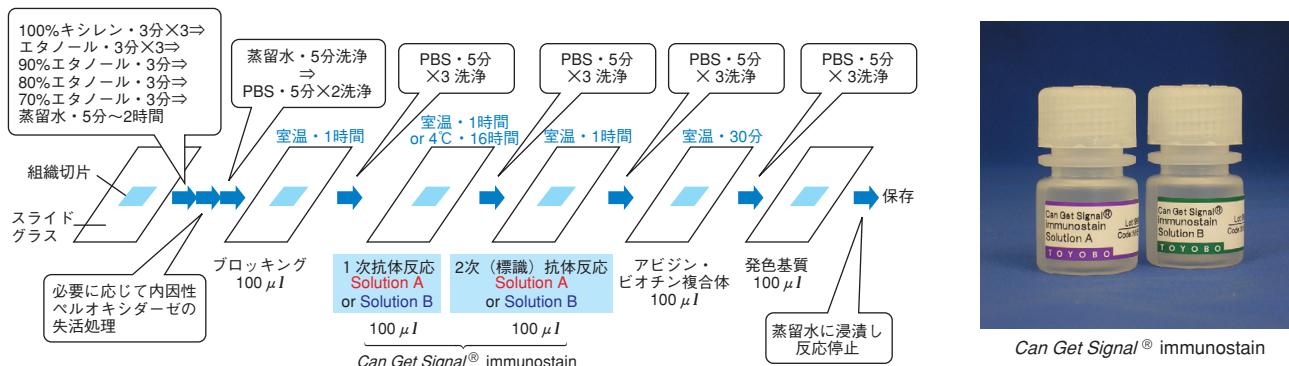


図3 ● Can Get Signal® immunostain を用いる ABC 染色の実験フロー

組織免疫染色

組織免疫染色 (IHC) には、Can Get Signal® immunostain immunoreaction enhancer solution (以下、Can Get Signal® immunostain) を用います。サンプルとしては、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 切片や、凍結切片、固定化した細胞などを用いることができます。また、発色、蛍光など、いずれの検出系にも使用可能です。固定化、賦活化、ブロッキング、およびABC法などのアビン-ビオチン反応などは従来の方法をそのまま用いることができます。

Can Get Signal® immunostain には、Solution A と Solution B とがあり、それぞれ抗体反応時の溶液として用います (図3)。Solution A と B はそれぞれ独立した試薬で、1次抗体反応と2次(標識)抗体反応の両方に使用できます。Solution A と B は、抗原抗体反応の促進作用が異なるように設計されており、どちらの溶液が適切かを最初に確認することで、よりクリアな結果を得ることができます。

図4に、ヒト皮膚モデル中に発現している PCNA (Proliferating cell nuclear anti-

gen) をABC法を用いて検出した例を示しました。抗体反応に従来の1.5%ウマ血清/PBSの代わりにCan Get Signal® immunostainを用いることにより、バックグラウンドが低く抑えられたままシグナルが増強されていることが確認できました。

おわりに

本試薬の詳細、および実験のコツなどに関しては、弊社ウェブサイト (<http://www.toyobo.co.jp/bio/>) の「新着製品情報」、「話題の商品」および「実験お助けコーナー」に情報を掲載しております。ご興味のある方は是非、一度アクセスください。

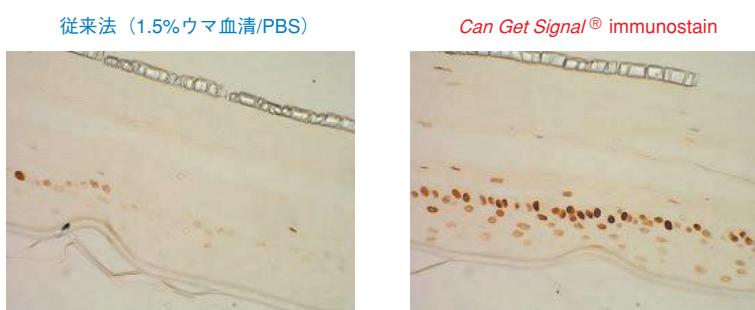


図4 ●ヒト皮膚モデル中に発現している PCNA の ABC 法による検出

サンプル：ヒト皮膚モデル (TESTSKIN™) (東洋紡製)。1次抗体：抗PCNA mouseモノクローナル抗体。2次抗体：ビオチン標識抗mouse IgG抗体。染色：DAB。Can Get Signal® immunostain Solution A 使用。ブロッキング：3%ウマ血清/PBS

TOYOB

東洋紡績株式会社 ライフサイエンス事業部
〒530-8230
大阪府大阪市北区堂島浜二丁目2番8号
Tel : 06-6348-3888 (テクニカルライン)
e-mail : techosk@bio.toyobo.co.jp
(テクニカルライン)
URL : <http://www.toyobo.co.jp/bio/>

BIOバイオ テクノロジー ジャーナル 愛読者プレゼント

いつもバイオテクノロジージャーナル誌をご愛読いただきありがとうございます。

ただ今、簡単なアンケートにご回答いただくと抽選でプレゼントが貰えるお得な企画を実施中です。編集部では今後もさらに充実した誌面を作つて行きたいと思いますので、皆様の率直なご感想を募集しています。

『年間購読者の皆様』、『これから購読をお申込みの皆様』に朗報です！

今回のプレゼントは、東洋紡績株式会社に提供いただいた小型電気泳動装置（ゲルメーカー・セット付き）です！

すでに年間購読をお申込みいただいている方は、下記ホームページから簡単なアンケートにお答えください。まだ年間購読をお申込みいただいている方も大丈夫。アンケートと共にお申込みいただいた方すべてにチャンスがあります！

<http://www.yodosha.co.jp/btjournal/index.html>

今号のプレゼント

[回答期間：2007年2月20日～2007年4月19日]



10名様

東洋紡績株式会社

小型電気泳動装置 GelMate[®] 2000
【ゲルメーカー・セット付き】

◆以下の方が抽選の対象です◆

- ①すでに年間購読をされている方
- ②新規で年間購読をお申込みいただいた方

詳細・アンケートの回答は羊土社ホームページのフォームより今すぐ!!

<http://www.yodosha.co.jp/btjournal/index.html>

年間購読なら 10%off+送料*サービス！

1年間(6冊) 15,750円(税込) → 14,175円(税込)

毎号発行次第お手元に届くので便利です!!

*海外年間購読料は送料実費をいただきます。

問い合わせ先 株式会社 羊土社

TEL 03(5282)1211 FAX 03(5282)1212 E-mail : eigyo@yodosha.co.jp

本号の252ページにて、東洋紡績
株式会社の製品紹介記事「Can Get
Signal[®]シリーズ」を掲
載しています。ぜひご覧
下さい。

