

製品コード T7111A

研究用

TAKARA

Western BLoT Immuno Booster

説明書

v201912

Western BLoT Immuno Booster は、抗体の反応性を増強させる成分を含む溶液で、抗体の希釈液に用いるだけで、抗原抗体反応を促進します。本製品は、ウェスタンブロット、ELISA 等の各種イムノアッセイに対応しており、各アッセイにおいて数倍から数十倍の検出感度向上が期待できます。西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP)、アルカリホスファターゼ (AP) の活性に影響がないため、これらの標識抗体を使用するアッセイ系において、発色検出、発光検出に利用できます。

ウェスタンブロットティングで、HRP 化学発光基質である Western BLoT HRP Substrate シリーズを用いて検出を行う場合、本製品と組み合わせて使用することにより、検出感度が向上し、より高いシグナルを得ることが可能です。

I. 内容

Western BLoT Immuno Booster Solution 1	250 ml
Western BLoT Immuno Booster Solution 2	250 ml

II. 保存

4℃保存

※適切に保管し、受取後 1 年をめどにご使用ください。

III. 本製品以外に必要なもの

イムノアッセイに必要な試薬、機器等：

実施するイムノアッセイ (ウェスタンブロットティング、ELISA 等) に必要な全ての試薬、機器等をあらかじめ準備してください。アッセイ方法・操作などは従来のみまで変更する必要はありません。

IV. 操作上の注意

本製品を使用する場合の注意事項です。使用前に必ずお読みください。

1. 本製品は、そのまま使用できるように調製されています。希釈せずに原液のまま使用してください。
2. Western Blot Immuno Booster Solution 1 は一次抗体の希釈用、Western Blot Immuno Booster Solution 2 は標識二次抗体の希釈用に最適化されています。標識された一次抗体を使用するなど、抗体を1種類しか使用しないアッセイの場合は、Solution 2 を使用してください。ただし、アッセイ系や抗体の種類によっては、Solution 1 を使用したほうが良い場合があります。

V. 使用方法

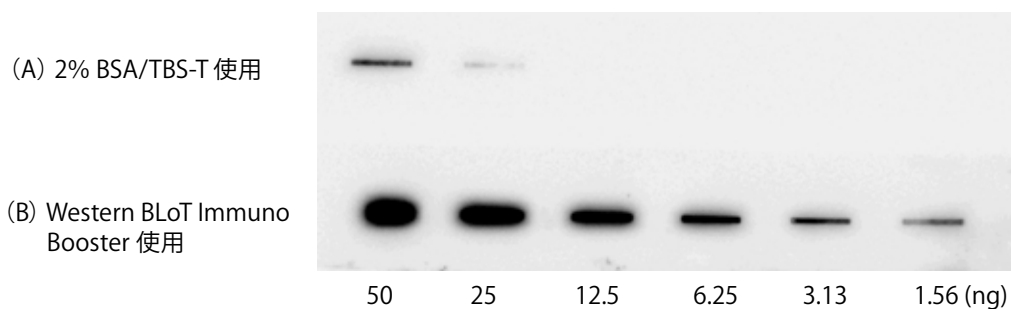
1. 抗体の希釈：
本製品を用いてあらかじめ抗体を適切な濃度に希釈する。一次抗体の希釈には Immuno Booster Solution 1 を、標識二次抗体の希釈は Immuno Booster Solution 2 を使用する。希釈率は通常と同じか、または通常より希釈率を上げる。アッセイ系によってはあらかじめ予備試験を行い、希釈率を最適化する。
標識された一次抗体を使用するなど抗体を1種類しか使用しないアッセイの場合は、Solution 2 を用いて希釈する。ただし、アッセイ系や抗体の種類によっては、Solution 1 を使用したほうが良い場合があるので、予備試験による最適化を行う。
2. イムノアッセイ：
本製品を用いて希釈した抗体を用いて、イムノアッセイ（ウェスタンブロットティング、ELISA 等）を行う。操作方法は通常と同じで、変更する必要はない。
3. 検出：
検出方法は通常と同じで変更する必要はない。ただし、本製品の使用により検出感度が向上するので、発色時間、露光時間などを適宜調整する必要がある。長時間の反応はバックグラウンドの上昇が起きる可能性があるのを避ける。

VI. 使用例

2% BSA を含む TBS-T で抗体を希釈した場合 (A) と Western BLoT Immuno Booster で抗体を希釈した場合 (B) での、Slot Blot での検出感度を比較した。

抗原： Human transferrin 50 ng を 2 倍ずつ段階希釈して Slot Blot
一次抗体： Goat anti-Human Transferrin, Polyclonal Antibody (1 mg/ml)
二次抗体： Peroxidase Labeled Rabbit anti-Goat IgG (0.5 mg/ml)
発光基質： Western BLoT Quant HRP Substrate (製品コード T7102A)
メンブレン： ニトロセルロース
検出： CCD カメラ (露光時間 20 秒)

抗体 (希釈率)	(A) の抗体希釈 Buffer	(B) の抗体希釈 Buffer
一次抗体 (1:2,000)	2% BSA /TBS-T	Immuno Booster Solution 1
二次抗体 (1:25,000)	2% BSA /TBS-T	Immuno Booster Solution 2



Western BLoT Immuno Booster を使用した場合、TBS-T と比べておよそ 20 倍の感度増強効果があることが確認された。

VII. トラブルシューティング

ウェスタンブロットティングや ELISA には複数のステップがあるため、条件の至適化が必要になる場合があります。使用するタンパク質の適切な量、一次抗体や二次抗体の最適な希釈率などを、予備検討を行うことで決定することをお勧めします。

■ウェスタンブロットティング

問題	原因	解決策
バックグラウンドが高い、またはエキストラバンドが多い	使用した抗体の濃度が高すぎる	抗体の希釈倍率を上げて抗体濃度を下げる
	使用した抗原の量が多すぎる	使用する抗原の量を減らす
	ブロッキングが不十分	ブロッキング条件を最適化する
	ブロッキング剤が不適切	ブロッキング剤の種類を変える
	露光時間が長すぎる (X 線フィルムの場合)	露光時間を短くする
バンドが見えない、またはシグナルが弱い	洗浄が不十分	洗浄の時間や回数、洗浄バッファの量を増やす
	一次抗体が不適切	一次抗体が正しいかどうか確認する
	二次抗体の種類が不適切	二次抗体が一次抗体を認識することを確認する
	抗原や抗体の量が不十分	抗原、または抗体の量を増やす
	タンパク質の転写が不十分	転写条件を最適化する
	露光時間が短い (X 線フィルムの場合)	露光時間を長くする

■ ELISA

問題	原因	解決策
バックグラウンドが高い	使用した抗体の濃度が高すぎる	抗体の希釈倍率を上げて抗体濃度を下げる
	使用した抗原の量が多すぎる	使用する抗原の量を減らす
	ブロッキングが不十分	ブロッキング条件を最適化する
	ブロッキング剤が不適切	ブロッキング剤の種類を変える
	洗浄が不十分、または過剰洗浄によるブロッキング効果の低下	洗浄の時間や回数、洗浄バッファの量を調節する
シグナルが弱い	使用した抗体の量が不十分	抗体の希釈倍率を下げる
	使用した抗原の量が不十分	抗原の量を増やす
シグナルが強すぎる	使用した抗体の濃度が高すぎる	抗体の希釈倍率を上げる
	使用した抗原の量が高すぎる	使用する抗原の量を減らす
	インキュベーションの時間が長すぎる	抗体とのインキュベーション時間を短くする

VIII. 関連製品

<化学発光検出用 HRP 基質>

Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (製品コード T7101A/B)
Western BLoT Quant HRP Substrate (製品コード T7102A/B)
Western BLoT Hyper HRP Substrate (製品コード T7103A/B)
Western BLoT Ultra Sensitive HRP Substrate (製品コード T7104A/B)

<抗原抗体反応促進剤>

Western BLoT Immuno Booster PF (製品コード T7115A)

<迅速・高感度検出試薬>

Western BLoT Rapid Detect v2.0 (製品コード T7122A)

<ブロッキングバッファー>

Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (製品コード T7132A)

<ストリッピングバッファー>

Western BLoT Stripping Buffer (製品コード T7135A)

<バッファータブレット、パウダー>

Tris-Glycine-SDS Buffer (TG-SDS) Powder, pH8.3 (製品コード T9101)
Tris-Glycine Buffer (TG) Powder, pH8.3 (製品コード T9102)
Tris Buffered Saline (TBS) Tablets, pH7.6 (製品コード T9141)
Tris Buffered Saline with Tween 20 (TBS-T) Tablets, pH7.6 (製品コード T9142)
Phosphate Buffered Saline (PBS) Tablets, pH7.4 (製品コード T9181)
Phosphate Buffered Saline (PBS) Tablets without Potassium, pH7.4 (製品コード T9182)
Phosphate Buffered Saline with Tween 20 (PBS-T) Tablets, pH7.4 (製品コード T9183)

<タンパク質電気泳動用ラダーマーカー>

CLEARLY Protein Ladder (Unstained) (製品コード 3453A/B)
CLEARLY Stained Protein Ladder (製品コード 3454A/B)

IX. 注意

- 本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- 本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

タカラバイオ株式会社