

製品コード T7115A

研究用

Takara

Western BLoT Immuno Booster PF

説明書

v201704

Western BLoT Immuno Booster PF は、ウェスタンブロットリング等のメンブレンや基材上で行われるイムノアッセイ系の抗原・抗体反応において、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。本製品は完全プロテインフリーの 100% 化学成分からなる試薬で、一次抗体、二次抗体反応で共通に、抗体の希釈液として使用することができる 1 液タイプの増強試薬です。界面活性剤含有バッファーを用いる従来法に比べ、高いシグナルが得られることとバックグラウンドを低減させることが特長で、抗体使用量の節約や反応時間の短縮、少量の抗原の検出に有効です。また、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。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ることで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。

本製品はプロテインフリー専用ですので、ブロッキング剤も同様にプロテインフリーの Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (製品コード T7132A) を使用することをお勧めします。100% プロテインフリーの環境はリン酸化タンパク質の検出や、サンプルに含まれる特殊タンパク質の検出、試薬由来のタンパク質を反応系に持ち込みたくない場合等に最適です。

I. 内容 Western BLoT Immuno Booster PF 250 ml

II. 保存 4℃
※適切に保管し、受取後 1 年を目途にご使用ください。

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リング等) 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・操作などは従来のま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. 本製品は 1 液構成ですので、1 次抗体、2 次抗体で共通に使用できます。抗体を本製品で目的とする濃度に希釈してアッセイに使用してください。
3. 本製品はプロテインフリー条件下で使用するように設計されています。ブロッキング剤等反応に使用する試薬はプロテインフリーのものをご使用ください。

推奨品

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

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。抗体濃度は通常と同じか、感度が上がる場合は通常より使用量を減らす。必要に応じて予備試験を行い、抗体濃度を最適化する。
2. イムノアッセイ：
本製品で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リング等）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：
通常と同じ方法で行う。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ため避けた方がよい。

VI. 使用例

本製品の使用例と効果を以下に示します。

【使用例 (1)】

サンプル： HeLa 細胞ライセート (5、2.5、1.25、0.625、0.312 μg / レーン)

ブロッキング剤： Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (製品コード T7132A)

一次抗体： Monoclonal Anti- β -actin, clone AC-15 (2 mg/ml) [isotype IgG1]
(終濃度 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

二次抗体： Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Peroxidase conjugated (終濃度 0.16 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

抗体希釈： 抗体濃度の調整に以下の試薬を使用した。

| | |
|---|--|
| 1 | Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (製品コード T7132A) |
| 2 | Western BLoT Immuno Booster PF |

基質： Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (製品コード T7101A)

洗浄液： TBS-T [組成： 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20 (pH7.6)]

1. Western BLoT Blocking Buffer
(Protein Free)

5 2.5 1.25 0.625 0.312

2. Western BLoT Immuno Booster PF

5 2.5 1.25 0.625 0.312 (μg)



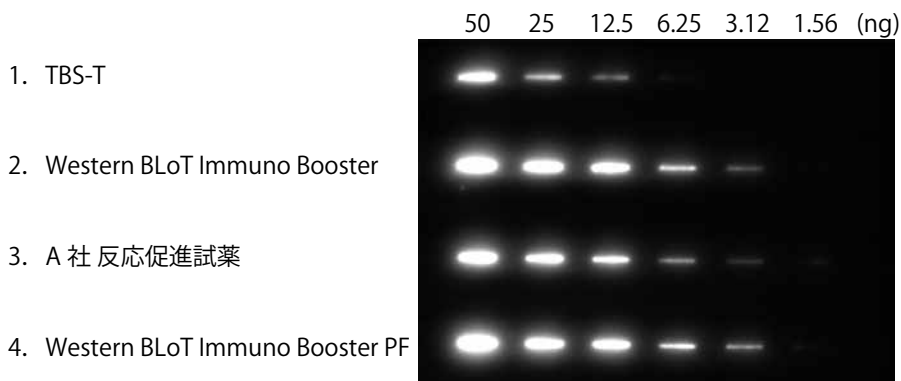
露光 5 分

【使用例 (2)】

- サンプル： Human Transferrin (50、25、12.5、6.25、3.12、1.56 ng/ レーン)
ブロッキング剤： Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (製品コード T7132A)
一次抗体： Goat anti-Human Transferrin affinity purified (終濃度 0.5 $\mu\text{g/ml}$)
二次抗体： Affinity Purified Antibody Peroxidase Label Rabbit anti-Goat IgG (H+L)
(終濃度 0.1 $\mu\text{g/ml}$)
抗体希釈： 抗体濃度の調整に以下の試薬を使用した。

| | |
|---|--|
| 1 | TBS-T |
| 2 | Western BLoT Immuno Booster (製品コード T7111A) |
| 3 | A 社 反応促進試薬 |
| 4 | Western BLoT Immuno Booster PF |

- 基質： Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (製品コード T7101A)
洗浄液： TBS-T [組成： 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20 (pH7.6)]



露光 5 分

VII. トラブルシューティング

イムノアッセイ（ウェスタンブロットリング等）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、予備検討を行って決定することをお勧めします。

■ウェスタンブロットリング

| 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 | ブロッキング剤にタンパク質が含まれている ブロッキング剤は Western Blot Blocking Buffer (Protein Free) (製品コード T7132A) を用いる |
| | 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 |
| | 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 |
| バンドが見えない、またはシグナルが弱い | 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 |

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 (製品コード T7111A)

<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