

# Product Selection Guide

本コーナーでは、シリーズで販売している試薬・キットを取り上げ、各用途に最も適した試薬の組み合わせ、使用方法、及びコツなどについて解説いたします。



## Can Get Signal®シリーズを用いる各種免疫アッセイ

免疫反応におけるシグナルの増強、及び特異性アップに効果があります。

### はじめに

Can Get Signal®シリーズは、ウェスタンブロットリングやELISA、免疫組織染色(IHC)、及び蛍光免疫染色など、抗原抗体反応を用いる解析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。本試薬は、特異性を保ちつつ、抗原-抗体反応を促進する効果があります。また、特に反応性が低い抗体ほど顕著な改善効果を示す傾向があることが確認されています。ご使用方法は、従来のTBS-Tなどの抗体反応用のバッファーを、本製品のバッファーに変更するだけです。

### 試薬の選択

ウェスタンブロットリングやドットブロットリング、ELISA等のアッセイ系では、**Can Get Signal®**を使用します。Can Get Signal®は1次抗体用のSolution 1と2次抗体用のSolution 2の2種類の溶液のセットとなっています。それぞれ1次抗体、2次抗体の反応液として使用します。標識酵素や色素を結合した一次抗体を用いる場合(直接法)は、Solution 2を用います。Solution 2は標識体由来する非特異凝集を起こりにくくする組成となっています。ただし、抗体や抗原の種類によっては、Solution 1を使用した方が良い結果を得られる場合もありますので、一度ご検討いただくことをお勧めします。また、サンドイッチELISAにおける固相抗体と抗原との反応時には、抗原の反応液としてSolution 1を使用します。

Solution 1とSolution 2は単品で購入することも可能です。

**Can Get Signal® immunostain**は、組織、細胞などの免疫染色において、より鮮明な染色像が得られるように最適化した姉妹品です。本品はSolution AとSolution Bの2種類の溶液からなります。これらの溶液は、それぞれが1次抗体用、および2次抗体用として使用可能です(それぞれ単品で使用します)。それぞれの溶液は、抗体や染色をするサンプルに対する反応性が異なります。実験により適した方を選択の上でご使用いただくようになっています。初回のご使用では、2種類の溶液がセットになった**Starter Set(NKB-401)**を用いて予備検討を行うことをお勧めします。

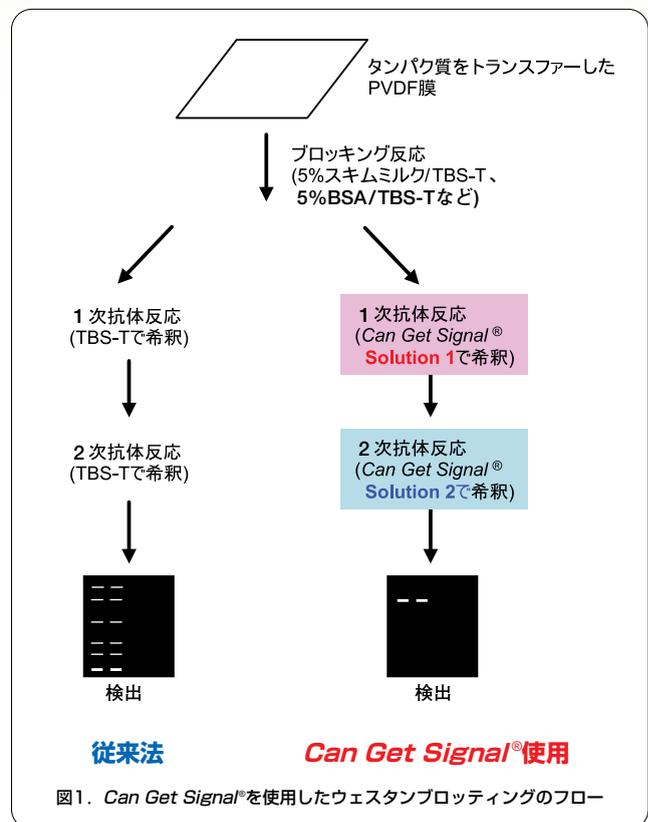


表1. 試薬選択の指標

商品名	用途	使用可能な検出系	使用法
Can Get Signal®	ウェスタンブロットリング ドットブロットリング ELISA等	発色、化学発光、蛍光等	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ウェスタンブロットリング・ドットブロット(2種類の抗体を使用する場合)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>1次抗体反応 ⇒ <b>Solution 1</b></li> <li>2次(標識)抗体反応 ⇒ <b>Solution 2</b></li> </ul> </li> <li>■サンドイッチELISA                             <ul style="list-style-type: none"> <li>固相抗体 ⇒ 炭酸バッファーなどで固定化</li> <li>抗原反応 ⇒ <b>Solution 1</b></li> <li>1次抗体反応 ⇒ <b>Solution 1</b></li> <li>2次(標識)抗体反応 ⇒ <b>Solution 2</b></li> </ul> </li> </ul> <p>※直接標識抗体を使用する場合 標識抗体反応 ⇒ <b>Solution 2</b> (場合によって<b>Solution 1</b>)</p>
Can Get Signal® immunostain	免疫染色(組織・細胞等)	発色、化学発光、蛍光等	<ul style="list-style-type: none"> <li>●パターン1                             <ul style="list-style-type: none"> <li>1次抗体反応 ⇒ <b>Solution A</b></li> <li>2次抗体反応 ⇒ <b>Solution A</b></li> </ul> </li> <li>●パターン2                             <ul style="list-style-type: none"> <li>1次抗体反応 ⇒ <b>Solution B</b></li> <li>2次抗体反応 ⇒ <b>Solution B</b></li> </ul> </li> </ul> <p>※初回使用時に両方の試薬をテストする</p>

使用法と結果

(1) ウェスタンブロッティング、ELISA等

電気泳動、膜へのトランスファー、及びブロッキングは、一般的なプロトコールに従います。(特に変える必要はありません)。抗原抗体反応に、**Can Get Signal®**を用います。(Can Get Signal®はブロッキングや洗浄には使用できませんので、ご注意ください)。具体的な使用方法は、表1の組み合わせに従います。図2に実施例を示しますが、Can Get Signal®を用いて抗体を希釈したものでは、非特異的な反応が非常に低く抑えられた上、ターゲットのバンドのシグナルも非常に明瞭で、高いS/N比でEGFRを検出することができました。

また、従来法でも十分にシグナルが得られていた系においても、Can Get Signal®と組み合わせることで、使用する抗体量を節約しつつ従来と同等以上のシグナルを得ることも可能です(図3)。また、非特異反応が特にしやすい実験系などでは、抗体反応時にCan Get Signal®にブロッキング剤を混合して使用することもできます。

(2) 免疫染色

サンプルとして、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、さまざまな種類のものを用いることができます。固定化、賦活化、及びブロッキング等は従来と同じ方法で行います。また、ABC法などでのアビジン-ビオチン反応時も従来法に従います。

**Can Get Signal® immunostain**は抗体反応時の溶液としてのみ使用します。抗体濃度は、従来と同じ、もしくは薄めに設定します。更に、蛍光・発光による検出系においては、露光時間を短縮することによって、高いS/N比の像を効果的に得ることができることもあります(図4)。

従来、低い抗体力価による検出感度不足の問題は、添加する抗体濃度を高めることにより補われてきましたが、バックグラウンドや非特異染色が増加する原因ともなっていました。本製品の使用で抗原抗体反応を促進することにより、抗体量を増やすことなく従来より感度を上げることが可能です。今までご使用になられたことのない方、是非一度お試しください。

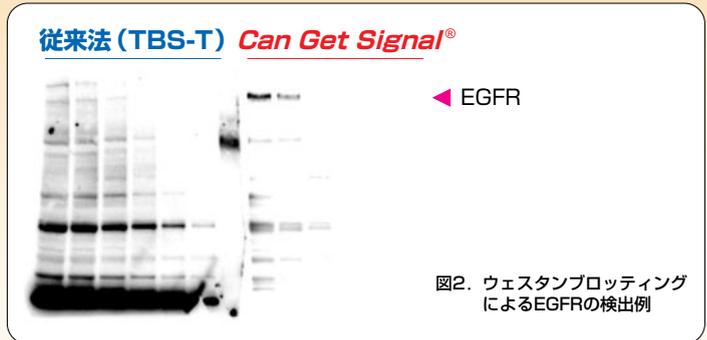


図2. ウェスタンブロッティングによるEGFRの検出例

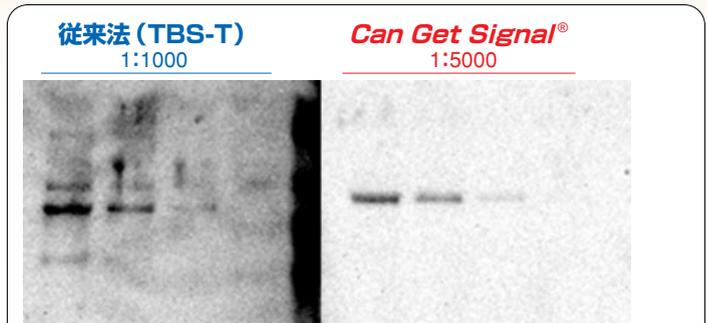


図3. His-ERK2タンパク質のウェスタンブロッティングによる検出例 (抗Hisタグ抗体使用)

従来法(1次抗体濃度 1:1000)では、特異的なバンドの出現は認められますが、バックグラウンドが高く、非特異バンドの出現や、マーカーへの強い非特異反応も見られます。一方、Can Get Signal®(1次抗体濃度 1:5000)使用時は、抗体量を1/5に減らすことで、同等の感度で、高いS/N比の結果を得ることができました。

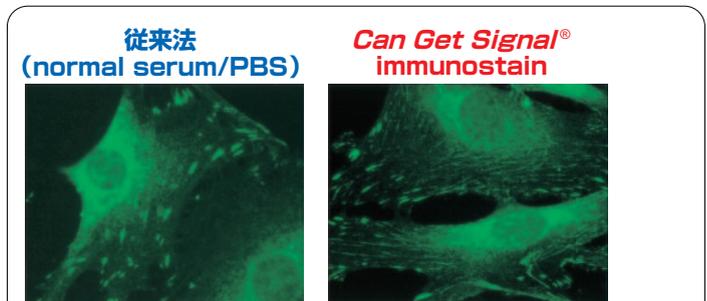


図4. Swiss 3T3細胞におけるPaxillinの蛍光染色

従来法と比べ、Can Get Signal® immunostainにおいては、シグナルが増強され、露光時間を短縮(3秒→1秒)することで、バックグラウンドの増加を抑えたS/N比の高い像を得ることができました。データ提供: 東京工業大学・原田伊知郎先生。

品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
<b>Can Get Signal®</b> Solution 1 (for primary antibody)	各250ml	4℃	NKB-101	¥30,000
	各50ml		NKB-101T	¥10,000
<b>Can Get Signal®</b> Solution 2 (for secondary antibody)	各50ml	4℃	NKB-101T	¥10,000
<b>Can Get Signal®</b> Solution 1 (for primary antibody)	250ml	4℃	NKB-201	¥17,000
<b>Can Get Signal®</b> Solution 2 (for secondary antibody)	250ml	4℃	NKB-301	¥17,000
<b>Can Get Signal® immunostain</b> Starter Set Solution A Solution B	各5ml	4℃	NKB-401	¥12,000
<b>Can Get Signal® immunostain</b> Solution A	20ml×1本	4℃	NKB-501	¥30,000
	20ml×4本		NKB-502	¥70,000
<b>Can Get Signal® immunostain</b> Solution B	20ml×1本	4℃	NKB-601	¥30,000
	20ml×4本		NKB-602	¥70,000