

PVDF Blocking Reagent for Can Get Signal®

NEW

免疫反応促進試薬Can Get Signal®を用いるウェスタンブロット解析に適した人工合成ブロッキング試薬です。

PVDF Blocking Reagent for Can Get Signal®は、免疫反応促進試薬「Can Get Signal®」(本誌p.2)を用いるウェスタンブロット解析に適した、Ready-to-useのブロッキング試薬です。

ウェスタンブロット解析において多用されるPVDFなどのメンブレンでの使用に適しており、高いブロッキング性能を発揮します。また本試薬は、人工合成ポリマーを主成分とし、タンパク性の成分を含まず、リン酸化タンパク質等の検出に適しています。Can Get Signal® Immunoreaction Enhancer Solutionと組み合わせてご使用ください。

特長1 高いブロッキング性能

- 本試薬は、PVDF膜を用いるウェスタンブロット解析での使用に至適化されており、高いブロッキング性能を発揮します。免疫反応促進試薬Can Get Signal® Immunoreaction Enhancer Solutionを用いるウェスタンブロット解析に適しています。

特長2 プロテインフリー

- 本試薬は合成ポリマーであり、タンパク質性の成分を含有しないため、リン酸化タンパク質の検出などに最適です。

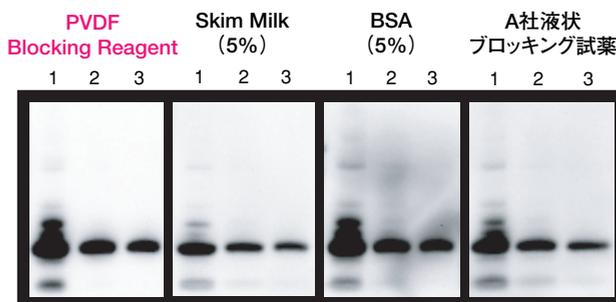
特長3 マスキング効果を低減

- 本試薬は、スキムミルク・ゼラチン等のブロッキング剤使用時に問題となる、抗原のマスキングによるシグナル低下が少なく、高いS/N比を得ることができます。



実施例1 各種ブロッキング剤との性能比較

ブロッキング剤として、本ブロッキング試薬、5%スキムミルク/TBS-T、5%BSA/TBS-T、およびA社製液状ブロッキング試薬を用いて、HeLa細胞溶解液をサンプルとして、ERK2タンパク質のウェスタンブロット法による検出を試みました。抗原抗体反応にはCan Get Signal® Immunoreaction Enhancer Solutionを用いました。その結果、本試薬を用いた場合で、最もバックグラウンドが低く、かつシグナルが高い明瞭な結果を得ることができました。



1: HeLa細胞溶解液
2: 1/4希釈
3: 1/16希釈

〈使用抗体〉

Santa Cruz Biotechnology社の以下の抗体を使用。
1次抗体：
anti-ERK2 (C-14) rabbit polyclonal IgG (Code No. SASC154), 2,000倍希釈
2次抗体：
anti-rabbit IgG goat polyclonal IgG (Code No. SASC2301), 20,000倍希釈

図1. 各種ブロッキング剤を用いたウェスタンブロットによるERK2タンパク質検出結果

実施例2 リン酸化タンパク質の検出

HeLa細胞溶解液(EGF刺激+/-)をサンプルとして、本製品をブロッキング剤として使用したウェスタンブロットを用いて、リン酸化ERK (p-ERK1、p-ERK2)の検出を行いました。抗体反応には、弊社免疫反応促進試薬 *Can Get Signal*® Immunoreaction Enhancer Solutionを使用しました。

その結果、非特異バンドの出現も少なく、p-ERK1 (44kDa)、p-ERK2 (42kDa) それぞれに由来する2本のバンドが明瞭に確認されました。EGF刺激の有無による差も明確に確認できました。

また、リン酸化タンパク質検出時にしばしば問題となる、ブロック剤中のカゼイン等に起因するバックグラウンドの生成も認められませんでした。



品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
PVDF Blocking Reagent for <i>Can Get Signal</i>®	500ml×1本	4℃	NYPBR01	¥13,500

※本試薬は使用濃度に調製済みの液状試薬です。通常は希釈せず原液のままご使用ください。
※本試薬は日油株式会社により専用製品として製造されています。

免疫反応促進試薬

Can Get Signal® Immunoreaction Enhancer Solution

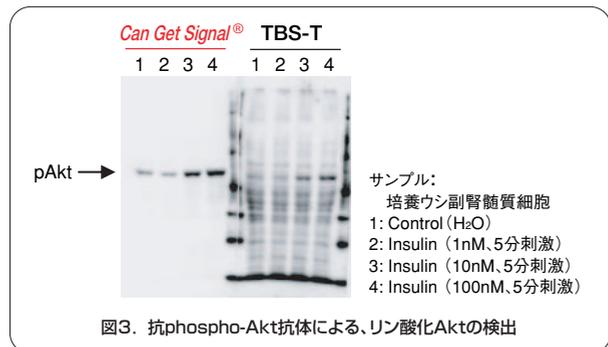


抗原抗体反応を促進し、同時にバックグラウンドを下げる効果のある試薬です。ウェスタンブロット解析/ELISA等の感度不足、特異性を改善することができます。使用方法は、従来、抗原抗体反応用の溶液として使用していたTBS-Tなどの代わりに、本試薬を用いるだけです。検出等に関しては、今までお使いの条件をそのままお使いいただけます。1次抗体用としてSolution 1、2次抗体用としてSolution 2を用います。抗リン酸化タンパク質抗体などの、良い抗体が得られにくいターゲットの検出等に、優れた威力を発揮します。

実施例1 ウェスタンブロットによるリン酸化タンパク質の検出

培養ウシ副腎髄質クロマフィン細胞の培養液にインスリンを任意の濃度で添加し、5分間刺激を行った細胞のライゼートをサンプルとして、ウェスタンブロット法によってリン酸化Akt (p-Akt)の検出を行いました。その結果、従来法(TBS-T使用)に比べ、*Can Get Signal*®を用いた場合、明らかなシグナルの増強と、バックグラウンドの低下が見られました(図3)。

※データは宮崎大学医学部 薬理学講座 柳田俊彦先生にご提供いただきました。



品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
<i>Can Get Signal</i>® Solution 1 for primary antibody Solution 2 for secondary antibody	各250ml×1本	4℃	NKB-101	¥30,000
	各50ml×1本		NKB-101T	¥10,000
<i>Can Get Signal</i>® Solution 1 for primary antibody	250ml×1本	4℃	NKB-201	¥17,000
<i>Can Get Signal</i>® Solution 2 for secondary antibody	250ml×1本	4℃	NKB-301	¥17,000