

製品 **Can Get Signal® immunostain** を用いた実施例

Schneider 2 (S2) のalpha-tubulin染色における従来法との比較実験

データご提供 京都大学 研究員様

実験方法

サンプル

Drosophila culture cell line (Schneider 2 (S2) cells)
 ※抗原タンパク質の発現誘導の有無:なし
 Concanavalin A coated glass bottom dish に接着30分

- ・希釈溶液: (1) 1% BSA, 0.02% TX-100/PBS (従来法)
 (2) **Can Get Signal® immunostain Solution A**
 (3) **Can Get Signal® immunostain Solution B**
- ・反応条件:室温、1 時間

ブロッキング、内因性ペルオキシダーゼ活性阻止

- ・ブロッキング溶液:1% BSA, 0.02% TX-100/PBS
- ・反応条件:室温、30分間
- ・内因性ペルオキシダーゼ活性阻止:なし

〈2次抗体〉

- ・使用抗体:Alexa Fluor® 488 goat anti-mouse IgG (H+L) highly cross adsorbed <Invitrogen>
- ・希釈倍率:1/600
- ・希釈溶液: (1) 1% BSA, 0.02% TX-100/PBS (従来法)
 (2) **Can Get Signal® immunostain Solution A**
 (3) **Can Get Signal® immunostain Solution B**
- ・反応条件:室温、1 時間

抗体反応

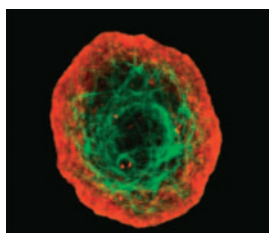
〈1次抗体〉

- ・使用抗体:monoclonal anti-alpha-tubulin, antibody, mouse <Sigma>
- ・希釈倍率:1/100

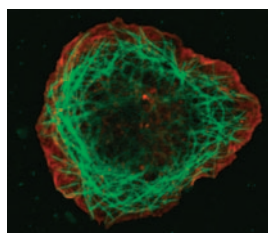
検出方法

Immunofluorescence (IF)

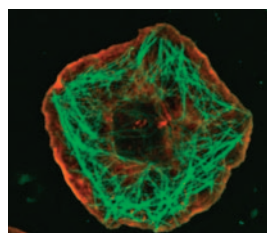
結果



(1) BSA (従来法)



(2) **Can Get Signal® Solution A**



(3) **Can Get Signal® Solution B**

蛍光退色防止剤 (FluorSave™ Reagent <CALBIOCHEM® #345789>) を用いてサンプルをマウントし、共焦点顕微鏡観察 <ZEISS LSM 510> を行いました。添付した画像は、共焦点顕微鏡の画像取得条件 (gain やレーザー強度など) は、全く同条件で行い、また、得られた画像のコントラスト等の画像処理は行っていません。

先生からのコメント

従来法でも、細胞内のチューブリン構造は可視化できていましたが、**Can Get Signal® immunostain** を使用した場合は、顕著なシグナル増強が認められ、従来法では、ややdiffuseであったチューブリン束のシグナルが、鮮明に検出されました。また、細胞内のバックグラウンドと思われるシグナルが減少傾向にありました。

Solution A, Solution B のどちらも、シグナルの増強が認められますが、Solution B の方が若干強い印象を受けました。Phalloidin で同時にアクチン骨格を可視化したところ、抗原抗体反応以外の反応には顕著な影響は見られませんでした。ただ、**Can Get Signal® immunostain** を使用した場合、細胞が存在しない部分 (Concanavalin A でコートしたガラスディッシュ上) に、非特異的なシグナルが多くみられた点が若干気になりましたが、この件を考慮しても、全体的には **Can Get Signal® immunostain** は、十分にシグナルを増強させることができると思いました。ちなみに、この非特異的なシグナルが、洗浄過程をより十分にすることで減少するかどうかについては未確認です。

今回使用した抗体は、ごく一般的な抗体でしたが、シグナル検出感度が低いものでは、より一層効果が期待できるのではないかと思います。

免疫反応促進試薬 **Can Get Signal® immunostain**



内容		Code No.	価格
Solution A&B	各5ml	NKB-401	¥12,000
Solution A	20ml	NKB-501	¥30,000
Solution A	(20ml × 1本) × 4	NKB-501x4	¥70,000
Solution B	20ml	NKB-601	¥30,000
Solution B	(20ml × 1本) × 4	NKB-601x4	¥70,000

Can Get Signal® immunostain は、免疫組織・細胞染色などの感度と特異性を改善する機能を有するバッファーです。

使用方法は、現在希釈液に用いている希釈血清やブロッキング溶液を本溶液に変更するだけです (Solution A と B は免疫反応の促進作用が異なり、両試薬ともに1次抗体および2次抗体にご使用いただけます)。

⇒詳しくは<http://www.toyobo.co.jp/bio>をご覧ください。