# 【Can Get Signal® Immunoreaction Enhancer Solution トラブルシューティング】

■ウェスタンブロッティング・ドットブロッティング■

| トラブル | 原因 | 対策 |
|---|---|---|
| シグナルが弱い | 電気泳動したタンパク質濃度が薄い。 | できる限り濃い試料を電気泳動してください。タンパク質の希釈系列を作成して最適濃度の検討を行うのが有効です。 |
| | 抗体濃度が薄い。 | ドットブロッティングにより、最適な抗体濃度を決定してください。 |
| | 膜へのトランスファーが不十分。 | 電流量を上げるか、トランスファー時間を延長してください。一般にゲル濃度が濃いほどトランスファー効率が低下します。また、グラジエントゲルを用いた場合、高分子領域と低分子領域のトランスファー効率の差が増大しますのでご注意ください。トランスファー法をセミドライ式からウェット式に変更することにより、効率が改善することがあります。 |
| | 膜へのトランスファー時間・電流量が過剰。 | 特にニトロセルロース膜使用時には、過剰なトランスファー操作により、タンパク質が膜の反対側に透過してしまう場合があります。電流量を下げるか、時間を短縮してください。膜の種類をPVDF に変えるのも有効です。 |
| バンドの中心の色が抜けてしまう | 抗体濃度が濃すぎる。 | 検出試薬によっては、過剰なシグナルにより逆に発光が抑えられてしまうことがあります。ドットブロッティングを行って最適な抗体濃度を決定してください。 |
| エキストラバンドが多い | 抗体濃度が濃すぎる。 | 過剰な抗体により、非特異的なシグナルが増大することがあります。ドットブロッティングにより最適な抗体量を決定してください。 |
| | タンパク質濃度が濃すぎる。 | タンパク質量を薄めて電気泳動を行ってください。希釈系列を作成して最適濃度の検討を行うのが有効です。 |
| | ブロッキングが不十分。 | 抗原・抗体種によっては、ブロッキング剤の種類、濃度に大きく依存する場合があります。ブロッキング剤の種類や濃度の条件検討を行ってください。 |
| | 洗浄が不十分。 | 洗浄回数を増やしてください。 |

■ELISA■

| トラブル | 原因 | 対策 |
|---|---|---|
| シグナルが弱い | 抗原または抗体の濃度が薄い。 | 抗原・抗体濃度の条件検討(タイトレーション)を行ってください。 |
| 発色が強すぎる | 抗原または抗体濃度が濃い。 | 抗原・抗体濃度の条件検討(タイトレーション)を行ってください。 |
| | 反応時間が長すぎる。 | 反応時間を短縮してください。 |
| バックグラウンドが高い | 抗原または抗体の濃度が濃すぎる。 | 抗原・抗体濃度の条件検討(タイトレーション)を行ってください。 |
| | ブロッキングが不十分。 | 抗原・抗体種によっては、ブロッキング剤の種類、濃度に大きく依存する場合があります。ブロッキング剤の種類や濃度の条件検討を行ってください。 |
| | 洗浄が不十分。 | 洗浄回数を増やしてください。 |
| 値の振れ幅が大きい。 | ELISA プレートに問題がある。 | ELISA プレートは、種類によってタンパク質の吸着効率が大きく異なる場合があります。また、ロット間での性能差が大きいプレートもあります。より正確な測定を行いたい場合は、ELISAプレートの選定は慎重に行ってください。 |

TOYOBO

＜製品の内容・技術に関するお問合せ＞
東洋紡　テクニカルライン
TEL 06-6348-3888　　FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土日祝日、休日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] https://lifescience.toyobo.co.jp/