

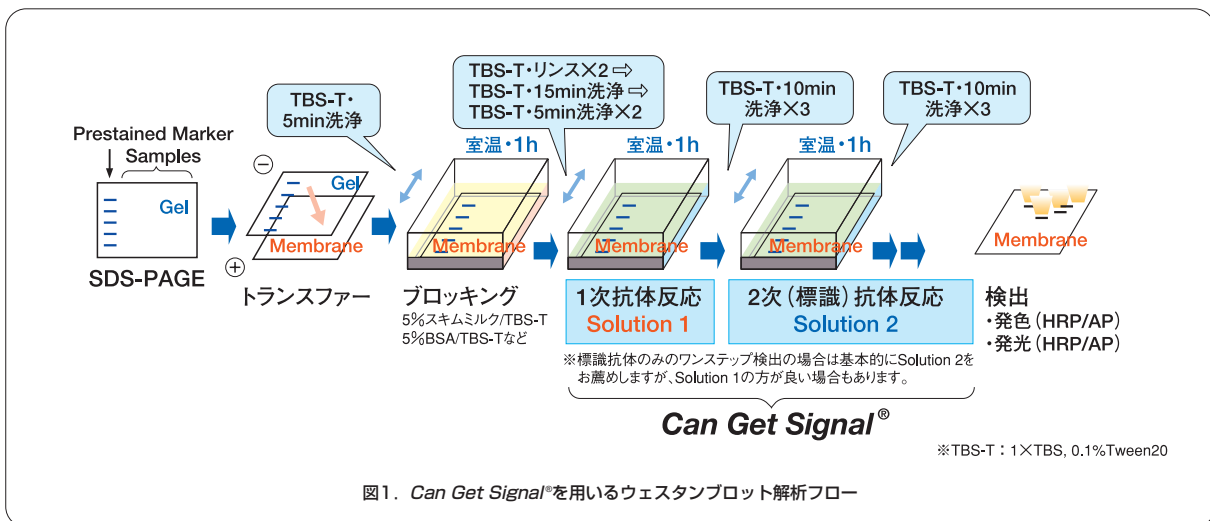


# Can Get Signal<sup>®</sup> Immunoreaction Enhancer Solution

Can Get Signal<sup>®</sup> Immunoreaction Enhancer Solution(以下、Can Get Signal<sup>®</sup>)は、ウェスタンブロットングやELISAなど、抗原抗体反応を用いる解析でしばしば問題になる、感度不足や高いバックグラウンドを改善するための免疫アッセイ用反応促進試薬です。

特に、反応性が低い抗体で顕著な効果を示す傾向があり、抗リン酸化タンパク質抗体や抗His-tag抗体などの良い結果が得られにくい抗体の使用において優れた結果を発揮し、多くの先生方にご好評をいただいております。

今回は、Can Get Signal<sup>®</sup>を、更に効果的かつ幅広くお使いいただくために、テクニカルラインで頻繁にお受けする質問を中心に、商品のご説明をいたします。



**Q1** 今使っている抗体では全く検出がうまく行かないのですが、そのような抗体でもCan Get Signal<sup>®</sup>で改善が可能ですか？

**A1** 非特異のバンドばかりが目立ち、目的のバンドがどれだか分からない右図(従来法)のような結果は、日常の実験における典型的な失敗の症状といえます。

Can Get Signal<sup>®</sup>を用いることによって、これらの症状が劇的に改善されることがあります。

実験1はEGFR発現亢進株として知られるA431細胞をサンプルとして、EGFRタンパク質の検出を試みた実験です。従来法では目的のバンドが非特異バンドに埋もれ、ほとんど検出できなかったのに対して、Can Get Signal<sup>®</sup>を用いた場合では、非常に明瞭な検出が可能となりました。

従来法

Can Get Signal<sup>®</sup>

◀ EGFR

**◆実験1◆**

サンプル: A431細胞溶解液(2倍段階希釈)

ブロッキング: 5% スキムミルク/TBS-T

一次抗体: 抗EGFR mouseモノクローナル抗体 (1:2000, Dako)

二次抗体: 抗mouse IgG goatポリクローナル抗体-HRP標識 (1:20000, Santa Cruz Biotechnology)

検出: ECL Plus (GE Healthcare)



**Q 2** *Can Get Signal*®を使わなくても十分に検出可能なのですが、そんな場合でも*Can Get Signal*®を使うメリットはありますか？

従来法	<i>Can Get Signal</i> ®
1 : 1000	1 : 5000

◀ His-Tag ERK2

**◆実験2◆**  
 サンプル: His-tag ERK2無細胞タンパク質合成反応液(2倍段階希釈)  
 ブロッキング: 5% スキムミルク/TBS-T  
 一次抗体: 抗His-Tag rabbitポリクローナル抗体(1:1000 または1:5000, Santa Cruz Biotechnology)  
 二次抗体: 抗rabbit IgG goatポリクローナル抗体-HRP標識(1:20000, Santa Cruz Biotechnology)  
 検 出: ECL Plus (GE Healthcare)

**A 2** 多くの場合、*Can Get Signal*®を用いることで、抗体の使用量を減らすことができ、かつ良好な結果を得ることができます。

実験2は、His-tagを融合したERK2タンパク質(無細胞タンパク質発現系で合成)のウェスタンブロットティングによる検出を試みた実験です。従来法でも十分にシグナルは確認できるものの、バックグラウンドが高く、非特異バンドの出現も見られました。一方、*Can Get Signal*®には抗原抗体反応を高める効果があり、同じ強さのシグナルを得るためでも、必要な抗体量を従来法より大幅に減らすことが可能でした。今回の実験では、*Can Get Signal*®を使うことによって抗体量を5分の1に減らすことができました。

*Can Get Signal*®を用いることで、貴重な一次抗体の使用量を減らし、しかもS/N比の高いより明瞭な像を得ることができます。

**Q 3** 他社からもウェスタンブロットティング用反応促進試薬が販売されていますが、それらの試薬と*Can Get Signal*®とは何が違うのですか？

**A 3** *Can Get Signal*®以外にも、ウェスタンブロットティングのシグナルを増強する試薬は他社から販売されていますが、それらの製品と*Can Get Signal*®には根本的な違いがあります。

他社品では、タンパク質をプロットした膜を抗体反応前に前処理し、抗体との結合を容易にするなどの原理が使われているようです。その中には、従来法よりも作業ステップが増えてしまう上、改善効果も限定的であったり、ニトロセルロース膜にしか使用できないものもあるようです。一方、*Can Get Signal*®は、抗原抗体反応に直接作用し、抗体の能力を最大限に引き出すことが特長であり、非常に幅広い系に対して効果的に作用します。膜の種類にも依存しません。

実験3は、A社製シグナル増強試薬との比較例で、それぞれ推奨の手順に従って比較を実施しました。A社製試薬の効果はわずかであったのに対し、*Can Get Signal*®では高いシグナル増強効果が認められました。

従来法	<i>Can Get Signal</i> ®	A社試薬

◀ His-Tag ERK2

**◆実験3◆**  
 サンプル: His-Tag ERK2 無細胞タンパク質合成反応液(2倍段階希釈)  
 ブロッキング: 5% スキムミルク/TBS-T  
 一次抗体: 抗His-Tag rabbitポリクローナル抗体(1:2000, Santa Cruz Biotechnology)  
 二次抗体: 抗rabbit IgG goatポリクローナル抗体-HRP標識(1:20000, Santa Cruz Biotechnology)  
 検 出: ECL Plus (GE Healthcare)



**Q4** ブロッキング条件などを変更することで、更に良い結果を得ることはできますか？

**A4** *Can Get Signal*®を用いる解析では、今お使いいただいているブロッキング等の条件・試薬そのまま用いることができますが、ブロッキング条件や検出反応などの条件を至適化することで、更に改善できる可能性があります。

実験4は、*Can Get Signal*®を使用してHeLa細胞からActinタンパク質の検出を試みた実験ですが、ブロッキング剤を変更することにより、検出感度や特異性に違いが現れました。

一般的には、スキムミルクは安価でブロッキング能が高い一方、シグナル自体も弱めてしまう(マスキング効果)、リン酸化タンパク質の検出には使用できないといった欠点があるといわれています。逆にBSAは、ブロッキング能や価格面では若干スキムミルクに劣りますが、強いシグナルを得たい場合には寧ろ適しています。また、リン酸化タンパク質の検出でのファーストチョイスとしても用いられます。

抗体反応以外にも実験の成功を左右する要素は大いに含まれていますので、実験条件を綿密に検討することが肝要であると思われます。

5%スキムミルク/TBS-T

5% BSA/TBS-T

◀ Actin

※いずれも*Can Get Signal*®使用

**◆実験4◆**

サンプル: HeLa細胞溶解液(2倍段階希釈)

ブロッキング: 5% スキムミルク/TBS-Tまたは5% BSA/TBS-T

一次抗体: 抗Actin goatポリクローナル抗体 (1:2000, Santa Cruz Biotechnology)

二次抗体: 抗goat IgG donkeyポリクローナル抗体-HRP 標識 (1:20000, Santa Cruz Biotechnology)

検 出: ECL Plus (GE Healthcare)

**Q5** *Can Get Signal*®が引用されている論文を知りたいのですが。

**A5** 以下のような論文がございます。

- Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**:7500-7505 (2007)
- Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**:11663-11668 (2005)
- International Archives of Allergy and Immunology*, **141**: 322-330 (2006)
- The Plant Cell* **17**:389-403 (2005)
- J. Neurochemistry*, **98**: 20-33 (2006)
- J. Biol. Chem.*, **280**: 39436-39447 (2005)
- J. Cell Biol*, **175**: 135-146 (2006)
- Cancer Research* **65**: 2617-2625 (2005)
- Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**: 11663-11668 (2005)

ここにご紹介しましたように、*Can Get Signal*®は、低い抗体価によるシグナル不足を解決するだけでなく、特異性の改善にも大きな力を発揮します。ご存知でなかった方、知っていたけど使用したことがなかった方、是非一度お試しの上、その効果をご確認ください。

また、免疫組織染色や免疫細胞染色を実施されている先生方には、免疫染色用の姉妹品*Can Get Signal*® immunostainもご用意しております。あわせてお試しください。

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	4℃	NKB-101	¥30,000
	各50ml		NKB-101T	¥10,000
<i>Can Get Signal</i> ® Solution 1 for primary antibody	250ml	4℃	NKB-201	¥17,000
<i>Can Get Signal</i> ® Solution 2 for secondary antibody	250ml	4℃	NKB-301	¥17,000
<i>Can Get Signal</i> ® immunostain Starter Kit Solution A Solution B	各5ml	4℃	NKB-401	¥12,000
<i>Can Get Signal</i> ® immunostain Solution A	20ml×1本	4℃	NKB-501	¥30,000
	20ml×4本		NKB-502	¥70,000
<i>Can Get Signal</i> ® immunostain Solution B	20ml×1本	4℃	NKB-601	¥30,000
	20ml×4本		NKB-602	¥70,000