

XL- Enhancer**使用説明書****【特徴】**

XL-Enhancer はウェスタンブロットングや ELISA などの抗原・抗体反応を用いた解析において、感度不足や高いバックグラウンド等の課題点を改善するための反応促進試薬です。さまざまな免疫アッセイ系に用いることができます。

1) 従来法に比べ高いシグナル・低いバックグラウンド

XL-Enhancer は、抗原抗体反応を促進する効果があり、界面活性剤含有バッファーを用いる従来法に比べ、数倍から数十倍の高いシグナルが期待できます。また、バックグラウンドが低くなるように設計されていますので、高いS/N比を得ることができます。

2) 既存品に比べ高いシグナルを得ることが可能

XL-Enhancer は、既存品に比べ、多くの場合高いシグナルを得ることが出来ます。抗体濃度や反応時間を従来通りの条件で行った場合にバックグラウンドが高くなる場合もあります。使用時には、抗体濃度や反応時間等を調節し、最適の条件でご使用ください。

3) 抗体使用量の節約や反応時間の短縮に効果

抗体使用量を減らしたい場合、少量の抗原を検出したい場合、検出時間を短くしたい場合などに有効です。

4) 高い汎用性

XL-Enhancer は、ウェスタンブロットングや ELISA など抗原抗体反応

を用いたさまざまなアッセイ系に広く用いることが可能です。

また、HRP(ペルオキシダーゼ)や AP(アルカリフォスファターゼ)などの

標識酵素の活性に影響を与えませんので、これらの標識抗体を用いたアッセイ系にも使用することができます。また、発色検出、発光検出のいずれにも使用可能です。

5) 簡単な使用方法

XL-Enhancer は、希釈せずにそのまま使用できるように調製されています。使用方法は、通常使用している抗体希釈液を本試薬へ替えるだけです。

【製品内容】

本製品には以下の種類があります。本マニュアルは以下の製品総てに適用されます。

Code No.	品名	内容	保存方法
BE-3110	XL-Enhancer Sセット	Solution 1st 100mL Solution 2nd 100mL	4°C
BE-3111	XL-Enhancer Lセット	Solution 1st 250mL Solution 2nd 250mL	4°C
BE-3112	XL-Enhancer Solution 1st	Solution 1st 250mL	4°C
BE-3113	XL-Enhancer Solution 2nd	Solution 2nd 250mL	4°C

【使用期限】

上記保存方法にて1年

本試薬は Solution 2nd の方が Solution 1st より
僅かに黄色が強くなっています。
変色ではありませんので、ご安心ください。

【使用方法】

○ 本試薬は、一次抗体希釈用の Solution 1st と二次抗体希釈用の Solution 2nd で構成されています。各 Solution は、それぞれの反応に最適化された組成となっていますので、それぞれの抗体反応において、抗体を本試薬により目的の濃度に希釈し、そのままアッセイに用いてください。アッセイ方法は従来のままで行って下さい。詳細は後述の使用例をご参照ください。

○ 抗体を一種類しか用いないアッセイ系(一次抗体に標識が付加されている場合など)の場合は、Solution 2nd の使用をお勧めします。但し、抗体の種類やアッセイ系によっては、Solution 1st を用いた方が良い場合もありますので、お試しください。

○ XL-Enhancer を使用して効果が見られた実験実績として、ウェスタンブロットング、抗体サンドイッチ ELISA (一次抗体標識型、二次抗体標識型)、抗原サイドイッチ ELISA (抗原標識型) などがあります。

1) ウェスタンブロットングにおける使用方法例

- ① SDS-PAGE : 通常の方法にて実施してください。
- ② PVDF 膜へのタンパク質転写 : 通常の方法にて実施してください。
- ③ ブロッキングならびに洗浄 : 通常の方法にて実施してください。
- ④ 一次抗体反応 : 一次抗体を Solution 1st にて希釈し、使用してください。

一次抗体の最適な希釈倍率は、抗体種、抗原の量、検出系の感度等に大きく依存します。本試薬を用いた場合、抗体を通常より低い濃度にする、あるいは反応時間を短くしても十分な反応が得られる場合が多いですが、予備検討により最適濃度を決定ください。

- ⑤ 二次抗体反応 : 二次抗体を Solution 2nd にて希釈し、使用してください。

二次抗体の最適な希釈倍率は、抗体種、抗原の量、検出系の感度等に大きく依存しますので、抗体の供給元の推奨条件等を参考にしてください。

- ⑥ 検出 : 通常の方法にて実施してください。
発色・発光の度合いを見ながら反応・露光を止めてください。長時間の反応はバックグラウンドの上昇やエキストラバンドの出現を起します。

※ 酵素標識した一次抗体を用いる場合、標識二次抗体は用いませんが、その場合には、標識一次抗体は Solution 2nd で希釈してください。なお、場合によっては Solution 1st の方が良い結果を得られる場合がありますのでお試しください。

2) ELISA における使用方法例

ここでは、「抗体サンドイッチ ELISA」における使用方法を記載します。

- ① 抗体の固相化、ブロッキング : 通常の方法にて実施してください。
- ② サンプル溶液・一次抗体の希釈、反応 :

抗原を含むサンプル溶液と一次抗体を Solution 1st にて希釈し、使用してください。一次抗体の最適希釈倍率は、抗体種、抗原の濃度、検出系の感度等に大きく依存しますので、抗体の供給元の推奨条件等を参考にしてください。

※ 抗原のみを反応させた後、プレートを洗浄してから一次抗体を Solution 1st で希釈して反応させる方法もあります。

- ③ 洗浄 : 通常の方法にて実施してください。
- ④ 二次抗体反応 :
標識された二次抗体を Solution 2nd にて希釈し、使用してください。二次抗体の最適希釈倍率は、抗体種、抗原の濃度、検出系の感度等に大きく依存しますので、抗体の供給元の推奨条件等を参考にしてください。
- ⑤ 洗浄 : 通常の方法にて実施してください。
- ⑥ 検出 : 通常の方法にて実施してください。

※ 酵素標識した一次抗体を用いる場合、標識二次抗体は用いませんが、その場合には、標識一次抗体は Solution 2nd で希釈してください。なお、場合によっては Solution 1st の方が良い結果を得られる場合がありますのでお試しください。

【トラブルシューティング】

ウェスタンブロット

トラブル	原因と対策
シグナルが弱い	<p>抗原タンパク質濃度が低い。できる限り濃い試料をご使用ください。</p> <p>抗体濃度が低い。最適な抗体濃度を検討してください。</p> <p>膜への転写が不十分。電流量を上げるか、転写時間を延長してください。</p> <p>ブロッキングが強すぎる。オーバーナイトなどでブロッキングを強くしすぎるとシグナルが弱くなる場合があります。</p> <p>膜への転写時間・電流量が過剰。特にニトロセルロース膜使用時には、過剰な転写操作により、タンパク質が透過する場合があります。電流量や時間を調節してください。膜の種類を PVDF 膜に代えるのも有効です。</p>
バンドの一部が抜ける	<p>抗原量が多すぎる、あるいは抗体濃度が高すぎる。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。最適な抗原量・抗体濃度を検討してください。</p>
エキストラバンドが多い	<p>抗体濃度が高すぎる。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。最適な抗体濃度を検討してください。</p> <p>タンパク質量が多すぎる。電気泳動するタンパク質量を減らしてください。</p> <p>ブロッキングが不十分。抗原や抗体によっては、ブロッキング剤に大きく依存します。ブロッキング剤の種類、濃度やブロッキング時間の検討を行ってください。</p> <p>洗浄が不十分。洗浄回数や洗浄時間を増やしてください。</p>
バックグラウンドが高い	<p>抗体濃度が高い、或いはインキュベーション時間が長い。シグナルが見えるがバックグラウンドも高い場合、抗体濃度を低くするか、抗体との反応時間を短くしてください。</p>

ELISA

シグナルが弱い	<p>抗原または抗体の濃度が低すぎる。抗原・抗体濃度の検討を行ってください。</p>
シグナルが強すぎる	<p>抗原または抗体の濃度が高すぎる。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。</p>
バックグラウンドが高い	<p>インキュベーション時間が長すぎる。時間を短くしてください。</p> <p>抗原または抗体の濃度が高い。抗原・抗体濃度の検討を行ってください。</p> <p>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や濃度に大きく依存します。ブロッキング剤の種類、濃度、ブロッキング時間を検討してください。</p> <p>洗浄が不十分か、過剰洗浄によるブロッキング効果の低下が考えられます。洗浄回数を調節してください。</p>



株式会社ファーマフーズ アプロサイエンスグループ
 〒770-0865 徳島県徳島市南末広町4-53 エコービル4階
 ■Tel:088-678-6372 ■Mail:bio@apro-s.com
 ■Url:https://apro-s.com/
 本社 〒615-8245 京都府京都市西京区御陵大原1-49