



2018.
May

Vol.2

ウェスタンブロットングで失敗しない抗体選び

ウェスタンブロットングは、ライフサイエンス研究において最も普及している実験手法の一つであり、標的とするタンパク質を抗体により検出し、発現の有無の確認や定量化が行われています。しかしながら、近年、期待通りに抗体が機能しないことが問題視され、論文投稿において使用した抗体情報を詳細に報告する方向に向かいつつあります。このような背景から、予め目的用途における有効性が検証済みである Validated抗体の必要性が増加しています。

バイオ・ラッドの PrecisionAb™抗体は、最大12種類のライセートを用い内在性のタンパク質が一定のシグナル強度以上で検出されることを確認するなど、従来よりも厳しい品質チェックに合格したウェスタンブロットングに特化した Validated抗体シリーズです。

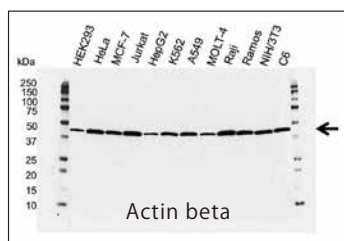
こんなお客様に最適

- ✓ 論文投稿に安心して使用できる抗体が欲しい
- ✓ 抗体が反応するポジティブコントロールが欲しい
- ✓ 抗体検証の費用を抑えたい

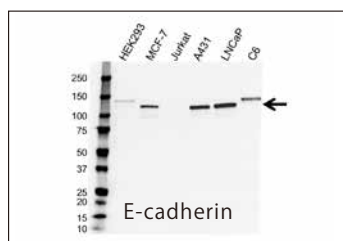
ウェスタンブロットング検証済み PrecisionAb抗体

ウェスタンブロットング用 Validated抗体として販売中の PrecisionAb抗体は、最大12種類の細胞株 (total lysate) を用い、抗体の特異性や感度、再現性などを実際のウェスタンブロットングにより検証し、厳しい基準を満たす抗体のみが製品化されています。

実際に製品化された PrecisionAb抗体は、ウェスタンブロットングの結果やプロトコルが弊社のウェブサイトで公開されており、安心して使用いただくことができます。



カタログ番号: VMA00048



カタログ番号: VMA00241

ポジティブコントロールとトライアルサイズ

PrecisionAb抗体は、ポジティブコントロールライセートが付属 (トライアルサイズのみ) されているため、どなたでも安心して実験を始めることができます。また、トライアルサイズを使えば、通常サイズ製品の購入前に抗体の反応性やプロトコルの確認を行えるため、低コストで抗体の検証実験にご利用いただけます。



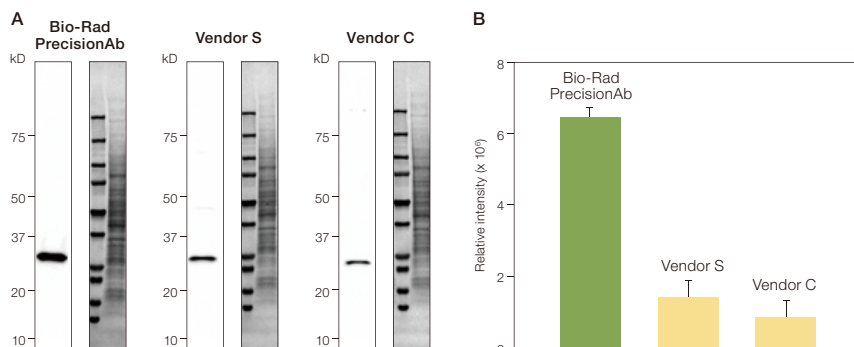
トライアルサイズ
抗体20µl + コントロールライセート400 µg
通常サイズ
抗体100 µl
*コントロールライセートのみの販売はありません。

高感度で定量性の高いデータを取得

微量なタンパク質の検出を求められることが多いウェスタンブロットングにおいて、高感度検出は重要な課題です。また、定量解析においても、検出されたシグナルが低い場合には様々なアーチファクトの影響を受けやすくなり、データのばらつきが大きくなるため、できるだけ高い検出シグナルを得ることが重要です。

右図は PrecisionAb抗体と他社同等製品を用い Jurkat セルライセート中の内在性 BCL-2 タンパク質の検出感度を比較した例です。PrecisionAb抗体は他社製品に比べ約5倍ほど高い検出シグナルが得られており、高感度な強いシグナル検出が可能であることが示されました。

このように PrecisionAb抗体は、より高感度な検出感度を得られる製品パフォーマンスを有しており、微量サンプルの検出から定量的な解析まで幅広い用途で利用できます。



各社抗体反応性比較例 (サンプル: Jurkatセルライセート ターゲットタンパク質: BCL-2)

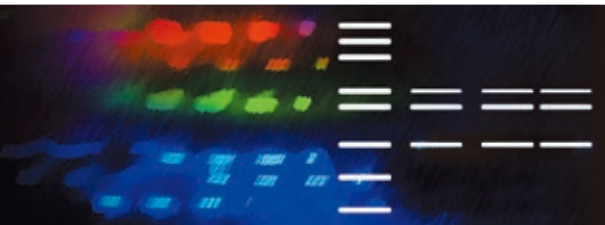
A: 左からターゲットタンパク質 (化学発光)、分子量スタンダード、総タンパク質
※分子量スタンダードおよび総タンパク質はStain-Freeテクノロジーを用いたメンブレンの検出画像
B: 検出されたバンドの定量結果 (Relative Intensity)
実験に使用した1次抗体の希釈倍率 (各社推奨の希釈率)
● PrecisionAb 1:1,000 ● Vendor S 1:1,000 ● Vendor C 1:500

PrecisionAb抗体 トライアルサイズのサンプル申込み受付中! お申し込みはこちら ▶▶ <https://info.bio-rad.com/wb-sample-request.html>



Hot News

今回は前回に引き続きWebinar形式で提供している情報ソースで、バイオ・ラッドのゲル/ウェスタンブロットング用解析ソフトウェア ImageLabについてご紹介いたします。



演題

Generating Semi-Quantitative Western Blot Data Using Bio-Rad's Image Lab™ 6.0 Software

バイオ・ラッドのImageLabソフトウェアは、ウェスタンブロットングの定量解析に対応しており、ハウスキーピングタンパク質や総タンパク質を用いたデータ補正が可能です。以下のURLより実際のデータ補正方法をStep by Stepでご覧いただけます。

■プレゼンター

Kenneth J. Oh, PhD,

Applications, Collaborations, and New Technology Manager, Bio-Rad Protein Quantitation Marketing Group



➡ URL : <https://info.bio-rad.com/ww-PQDwebinars.html>

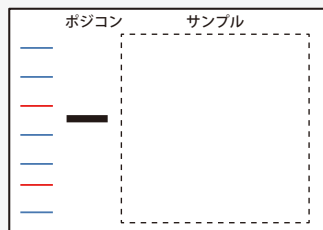
Technical Tips for Western Blotting

ポジティブコントロールはウェスタンブロットング成功の第一歩

ウェスタンブロットングでは、サンプルをアプライするレーンとは別にポジティブコントロール(以下、ポジコン)のレーンを設けて検出することが推奨されます。特に、初めて使用するサンプルや抗体を扱う場合にはポジコンを置くことが望ましいです。これは、ウェスタンブロットングの検出がうまくいかなかった場合、ポジコンの検出結果を参考にすることで「実験操作に問題があったのか?」それとも「サンプル自体に問題あったのか?」など、原因や対策の判断材料として役立つためです。また、非特異的なバンドが多く検出されてしまったようなケースでは、ポジコンの検出されたバンドの移動度を見ることで、どのバンドが目的のバンドであるか判断材料として使用できる場合もあります。

■ ポジティブコントロールと目的タンパク質の検出結果から得られるトラブルシューティング例

ポジコンは検出されているが、サンプルが検出されていないケース



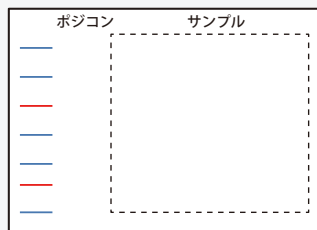
原因

サンプルに何らかの問題がある可能性がある

改善策

- サンプルの確認をする (タンパク質濃度、タンパク質の抽出方法、保存状態など)

ポジコンおよびサンプル共に検出されていないケース



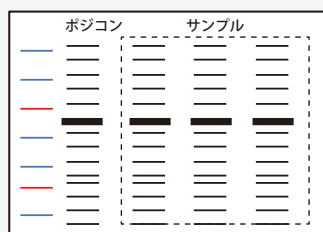
原因

抗体反応が認められず、抗体もしくは転写に問題がある可能性がある

改善策

- 抗体の保存状態や期限、希釈倍率を確認する
- 転写条件を変更する

ポジコンおよびサンプル共に非特異的なバンドが検出されるケース



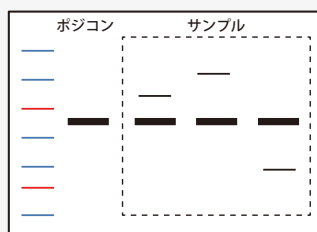
原因

一次抗体もしくは二次抗体反応に問題があるか、ブロッキング不足等の可能性がある

改善策

- 抗体の保存状態や期限、希釈倍率を確認する
- 洗浄条件(時間、回数、界面活性剤濃度など)を検討する
- ブロッキング条件を変更する
- サンプル量を減らす

サンプルに非特異的なバンドが検出されるケース



原因

サンプルにのみ非特異的な反応があるため、サンプルに問題がある可能性がある

改善策

- サンプルを新しく調製する
- 洗浄条件(時間、回数、界面活性剤濃度など)を検討する

*ここに記した事項はごく一部です。

BIO-RAD

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

取扱店

ライフサイエンス

www.bio-rad.com

本社 〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24 TEL:03-6361-7000

大阪営業所 〒532-0025 大阪市淀川区新北野 1-14-11 TEL:06-6308-6568

福岡営業所 〒812-0013 福岡市博多区博多駅東 2-5-28 TEL:092-475-4856

※学術のお問い合わせは TEL:03-6404-0331

※価格(税抜き)、仕様は2018年5月現在のものです、予告なく変更することがあります。
※本カタログに記載されている会社名、商品名は各社の商標または登録商標です。