

抗体評価用のELISA構築・測定キット

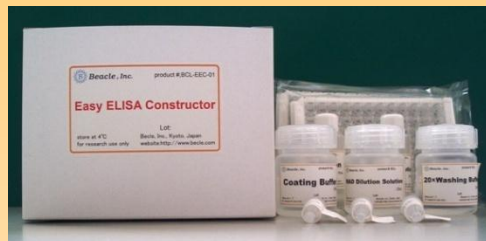
Easy ELISA Constructor (ab)

抗体の抗原に対する結合活性を測定するELISA系を迅速に構築し、迅速・高感度に測定できます。

自作抗体や初めて使う抗体では、抗原に対する結合活性を確認する必要があります。

本キットは当社独自で世界初のMAD(Multi-Antibody Detection)技術を利用した抗体結合プローブを用いることで、抗体検出型ELISAを簡単に構築し、抗原に対する結合活性を迅速・高感度に測定することができます。準備するものは抗原だけです。詳しい説明書が付いているので、初めての方でも容易にELISAの構築と測定ができ、抗体利用時の希釈倍率の目安を知ることが出来ます。

また、本キットを利用することでHRP標識検出抗体を利用した抗体検出型ELISAの感度を大幅に向上させることも可能です。



特長 1. 抗体の抗原に対する結合活性を測定するELISAを容易に構築可能

2. 各種動物のIgG検出に利用可能*

3. 構築したELISAは90分間の迅速測定が可能で、高感度

4. HRP標識検出抗体との併用で更に高感度化が可能

5. 構築に必要な物は免疫した抗原だけ

6. 付属の陽性抗原・抗体との比較で抗体の利用濃度の目安が分かる

7. 抗体を利用した抗体検出型ELISAの感度上昇にも利用可能

*: 通常版は、ウサギ、モルモット、ブタ、イヌ、ネコ、サル、ヒトのIgG検出が可能(ただし、一部のIgGサブクラスでは、検出が弱いものがあります)。その他に、マウス用とラット用があります。

【キット構成】 測定に必要な試薬が全て揃っております(詳細は裏面をご覧ください。)

【製品種類】

製品番号	品名	内容量
BCL-EEC-01	Easy ELISA constructor (ab)	1 kit (192 tests)
BCL-EEC-M1	Easy ELISA constructor for Mouse (ab)	1 kit (192 tests)
BCL-EEC-R1	Easy ELISA constructor for Rat (ab)	1 kit (192 tests)

*製品価格につきましては、HPまたはお問い合わせにて、ご確認ください。

**1キットには96穴プレート2枚が付属します。別途、業務用に機能を絞った廉価品の供給も可能です。その他の動物種については、別途受注生産いたします。

【関連製品】

製品番号	製品名	内容量
BCL-TMB-01	TMB溶液(1液型)	250mL
BCL-TMB-21	TMB溶液(2液型)	各 250mL
BCL-PIK-01	ペプチド固相化キット	1キット(3回分)

固相化が難しい短いペプチドについてはペプチド抗原固相化キットを併用下さい。

【製造・販売元】

株式会社ビークル

〒606-8305 京都市左京区吉田河原町14-1

TEL: 075-762-5055、FAX: 075-762-3055

website: www.beacle.com

E-mail: information@beacle.com

【販売】

販売店名が記載されていない場合は、(株)ビークルに直接ご注文いただくか、普段お使いの販売店にお問い合わせください。

【測定原理と測定時間】

測定対象となる抗血清や抗体の抗原に対する結合活性を測定するELISAを構築・測定するキットです。固相化した抗原に結合した抗体を、当社独自のMAD技術(抗体検出プローブ)を利用して検出する方式です。MAD技術により通常の2次抗体で検出するよりも迅速、高感度で検出することが可能です。

利用方法1: 結合活性が未知の抗体を評価する場合

測定対象の抗血清や抗体に関し設定条件の事前情報がある場合は、ステップ①を省略することが可能です。

ステップ①: 抗体検出ELISA構築のための条件検討 (陽性コントロール抗体と比較しながら、条件を設定します)

ステップ②: サンプルの測定と評価 (設定した条件下でサンプルの評価を行います)

各ステップは90分間です。ステップ①と②を行ったとしても、全操作を半日で完了することが出来ます。

①抗原固相化:20分間 ⇒ ②ブロッキング:15分間 ⇒ ③抗体と固相化抗原との反応:20分間 ⇒

④MAD試薬との反応:20分間 ⇒ ⑤発色反応:15分 ⇒ ⑥測定 **計:90分間***

更に高感度の検出を望む場合には MAD試薬とHRP標識検出抗体とを併用します。

*測定時間にはサンプル調整、洗浄、測定等は含まれません。サンプル数や抗原によって必要時間は異なります。

利用方法2: 抗体検出型ELISAの感度を向上させたい場合

固相化抗原に結合した抗体を2次抗体を利用して検出するタイプの抗体検出型ELISAでは本キットのMAD試薬とMAD反応バッファを利用することで感度を上昇させることが出来ます。

2次抗体の代わりにMAD試薬を利用すると約10倍程度、2次抗体と併用すると更に感度は向上し、最大100倍程度感度が上がります。詳しくは製品マニュアルをご覧ください。

【キット構成】

MAD試薬 (HRP標識)	1 本	発色試薬 (2液性)	2 本
抗原固相化バッファ	1 本	3倍濃縮ブロッキング溶液	1 本
20倍濃縮洗浄バッファ	1 本	発色反応停止液	1 本
MAD反応バッファ	1 本	96wellマイクロプレート (ストリップ型)	2 枚
陽性抗原 (凍結乾燥品)	1 本	陽性抗体 (ウサギ用)	1 本

構成は予告なく変更する場合があります。

*陽性抗体 (ウサギ用) の代わりに、マウス用には陽性抗体 (マウス用) とマウス増感試薬が、ラット用には陽性抗体 (ラット用) とラット増感試薬が構成成分として含まれます。

【実験例】

●IgGの評価(サンプル:マウス3匹の抗GFP抗血清)

ステップ① ELISA構築のための条件検討

吸光度の測定

陽性コントロール		マウス抗GFP抗血清				
抗体希釈率		抗体希釈率	固相化抗原濃度 (μg/mL)			
			0	1	0.1	0.01
1/100	2.600	1/100	0.113	4.457	4.500	3.320
1/1000	1.544	1/1000	0.116	4.457	1.857	1.680
1/10000	0.501	1/10000	0.131	1.264	0.402	0.302
blank	0.151	blank	0.139	0.141	0.144	0.148

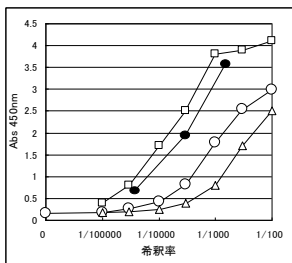
固相化抗原濃度、及び検量線用に選択したサンプル抗血清の希釈倍率の検討を陽性コントロールとの比較で行った。

①陽性コントロールは上手く測定できているのでELISAは正常に作動。

②抗原であるGFPを種々の濃度で固相化し、サンプル抗血清(マウス抗GFP抗血清)の各種濃度を測定すると用量依存的な反応が得られた。

③固相化抗原濃度が0.01 μg/mLで抗血清希釈は1/300が吸光度が測定範囲に入っているため、最適と判断 → 次のステップへ

ステップ② サンプル測定と陽性コントロールとの比較



ステップ①で確認したELISA条件と抗血清の濃度を用いて、検量線用に選択した抗血清を用いて、他の抗血清を評価した。

①検量線用に利用した抗血清(○)と比べ、一つの抗血清(□)は抗体価が約10倍高く、もう一つ(△)は約3倍低かったが、何れも用量反応を持って測定できた → 測定系には問題なし

②陽性コントロールと比較した場合、最も抗体価の高い抗血清(□)は約2倍高く、検量線用抗血清(○)の抗体価は約3倍低く、最も低いものは(△)は約10倍低かった。

測定した血清の利用の目安

陽性コントロール抗体の比較から抗血清を評価すると、最も抗体価の高い抗血清(□)はELISAやウェスタンで1/1000~10000倍程度の希釈で、中間の強さの抗血清(○)は1/100~1000希釈で利用可能と思われた。