

# Signal Booster Neo

## Protein-free immuno-reaction enhancing solution

### 取扱説明書

Beacle, Inc.  
KYOTO JAPAN

#### --- 目 次 ---

(1) はじめに .....	2
(2) 製品内容 .....	2
(3) 関連製品 .....	2
(4) 一般的な使用方法 .....	3
(5) ウェスタンブロッティング .....	3
(6) ELISA .....	3
(7) トラブルシューティング .....	4
(8) お問い合わせ先 .....	4

#### ご注意

1. 本試薬は研究用試薬です。診断・臨床用試薬としては使用しないでください。
2. 本試薬は組成濃度が最適化されていますので、希釈やブロッキング剤の添加等を行うと本来の性能が出ない場合がありますので、ご注意ください。

#### (1) はじめに

Signal Booster Neo はウェスタンブロッティングや ELISA などにおける抗原・抗体反応において感度不足や高いバックグラウンドを改善するための反応促進試薬です。本製品は 100% 化学成分で出来ており、リン酸化タンパク質の検出やその他タンパク質を反応系に入れたくない場合のさまざまな免疫アッセイ系利用できるように設計されています。

#### ●本製品の特長●

##### 1. 完全にタンパク質フリーの化学成分

Signal Booster Neo は 100% 化学成分だけで出来ており、リン酸化タンパク質の検出やその他のタンパク質を反応系に入れたくない場合に利用できるように設計されています。

##### 2. 1液構成の増強試薬で使用方法が簡単

Signal Booster Neo は 1液構成となっており 1次、2次抗体反応で使い分けする必要がありません。使用方法は、通常使用している抗体希釈液を本試薬へ代えるだけです。

##### 3. 高いシグナル・低いバックグラウンド

Signal Booster Neo は抗原抗体反応を増強する効果があり、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を得ることができます。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。

##### 4. 抗体使用量の節約や反応時間の短縮に効果

Signal Booster Neo は、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、検出時の検出時間を短くしたい場合などに有効です。

##### 5. 高い汎用性

Signal Booster Neo は、ウェスタンブロッティングや 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し、発色検出、発光検出のいずれにも使用可能です。

#### (2) 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に適用されます。

製品番号	製品名	容量
BCL-SBN-01	Signal Booster Neo 250 mL	250 mL
BCL-SBN-02	Signal Booster Neo 500 mL	500 mL

#### (3) 関連製品

本製品を使う際に一緒に利用すると効果のある製品または姉妹品として以下のものがあります。下記製品の内、c-Block は 100% 化学成分で出来た ready-to-use のブロッキング溶液で 100% のタンパク質フリーのアッセイ環境を提供しますので Signal Booster Neo との併用をお勧めします。

領域	製品番号	製品名	容量	製品概要
ブ ロ ッ キ 液	BCL-BKCW-01	c-Block-w	500 mL	ウェスタン用 100% 化学成分のブロッキング溶液
	BCL-BKCE-01	c-Block-e	500 mL	ELISA 用 100% 化学成分のブロッキング溶液
	BCL-BKH(W or E)-01	h-Block-w or -e	500 mL	カゼインベースのブロッキング溶液
	BCL-BKK(W or E)-01	k-Block-w or -e	500 mL	変性カゼインベースのブロッキング溶液
	BCL-BKB(W or E)-01	b-Block-w or -e	500 mL	BSA ベースのブロッキング溶液
	BCL-BKS(W or E)-01	Blocking sol. Trial set	20 mL × 4 set	ブロッキング溶液 4 種のトライアルセット
抗原抗体反応 増強試薬	BCL-125	Signal Booster	250 mL set	抗原・抗体反応増強試薬の定番
	BCL-110	Signal Booster	100 mL set	抗原・抗体反応増強試薬の定番

#### (4) 使用方法の原則

- 本試薬は1液構成となっています。1次、2次抗体を希釈する際に、目的とする濃度に本製品で希釈し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。
- 本製品は抗体反応に最適に調節されていますので、希釈しないで利用下さい。
- 抗体を一種類しか用いないアッセイ系の場合も同様に抗体を希釈して利用下さい。
- ブロッキング剤もタンパク質フリーの製品が準備されています。
- Signal Booster Neo を使用して効果が見られた使用実績として以下のものがあります。ウェスタンブロットティング、抗体サンドイッチ ELISA (1次抗体標識型、2次抗体標識型)、抗原サイドイッチ ELISA (抗原標識型) など。

#### (5) ウェスタンブロットティング(WB)

WB法は、SDS-PAGEなどで分離したタンパク質を、ニトロセルロース膜やPVDF膜に転写し、特異的抗体を用いて検出する方法です。以下に、Signal Booster Neoの使用方法を記載します。

- 1) SDS-PAGEとPVDFへのタンパク質転写は通常の方法により行って下さい。
  - 2) メンブレンのブロッキングや洗浄も通常の方法で行って下さい。
  - 3) 1次抗体をSignal Booster Neoで希釈し、メンブレンと反応させます。
  - 4) 2次抗体をSignal Booster Neoで希釈し、洗浄したメンブレンと反応させます。
  - 5) 検出のための発色・発光は、そ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こします。
- 注：1、2次抗体の最適希釈倍率は抗体種、抗原の量等に大きく依存します。本試薬を用いた場合、一般に通常濃度より低い抗体濃度、或は短時間で十分な反応が得られます。抗体の最適希釈倍率は抗体の供給元の推奨条件等を参考に予備検討により最適濃度を決定ください。

#### (6) ELISA

ELISA法は、酵素で標識された抗体あるいは抗原を用いて、試料溶液中にある抗原あるいは抗体の量を定量する方法です。抗原の検出では抗体サンドイッチ法(固相化抗体で抗原を補足し、別の抗体で検出する方法)が主流の検出法です。抗体を検出する際には抗原によるサイドイッチ法や直接法が利用されます。

##### ・抗体サンドイッチの場合

- 1) 抗体の固相化とブロッキングは通常の方法により行って下さい。
- 2) 抗原を通常バッファー(PBS-Tなど)で希釈し、固相化抗体と反応させます。
- 3) 1次抗体をSignal Booster Neoで希釈し、各ウェルに分注・混合させ1次抗体反応を行います。
- 4) 2次抗体をSignal Booster Neoで希釈し、1次抗体反応後に洗浄したウェルに2次抗体希釈液を分注・混合させ反応させます。
- 5) 以下は通常の方法により発色させます。

##### ・直接法による抗体検出の場合

- 1) 抗原の固相化とブロッキングは通常の方法により行って下さい。
- 2) サンプルを通常バッファー(PBS-Tなど)で希釈し、固相化抗原と反応させます。
- 3) 検出抗体をSignal Booster Neoで希釈し、各ウェルに分注・混合し、1次抗体反応を行います。
- 4) 2次抗体を利用する場合、Signal Booster Neoで希釈し、1次抗体反応後に洗浄したウェルに2次抗体希釈液を分注・混合させ反応させます。
- 5) 以下は、通常の方法により発色させます。

注：ELISAで利用する1、2次抗体の最適希釈倍率は抗体種、抗原の量等に大きく依存します。本試薬を用いた場合、一般に通常濃度より低い抗体濃度、或は短時間で十分な反応が得られます。抗体の最適希釈倍率は抗体の供給元の推奨条件等を参考に予備検討により最適濃度を決定ください。

#### (7) トラブルシューティング

トラブル	原因と対策
<b>ウェスタンブロットティング</b>	
シグナルが弱い	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 抗原タンパク質濃度が低い。できる限り濃い試料を電気泳動してください。</li> <li>2. 抗体濃度が低い。最適な抗体濃度を検討してください。</li> <li>3. 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。</li> <li>4. 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。</li> <li>5. 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に代えるのも有効です。</li> </ol>
バンドの一部が抜ける(発光検出)	5. 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。
エキストラバンドが多い	<ol style="list-style-type: none"> <li>6. 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。</li> <li>7. 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。</li> <li>8. 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。</li> <li>9. 洗浄が不十分。洗浄回数や洗浄時間を増やしてください。</li> </ol>
バックグラウンドが高い	10. 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。
<b>ELISA</b>	
シグナルが弱い	1. 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。
シグナルが強すぎる	<ol style="list-style-type: none"> <li>2. 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。</li> <li>3. 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。</li> </ol>
バックグラウンドが高い	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. 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。</li> <li>5. 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。</li> <li>6. 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。</li> </ol>

#### (8) お問い合わせ先

##### 株式会社ビークル【製造発売元】

〒606-8305 京都市左京区吉田河原町14-1

TEL: 075-762-5055 FAX: 075-762-3055

E-mail: [technical-support@beacle.com](mailto:technical-support@beacle.com)

Website: [www.beacle.com](http://www.beacle.com)

