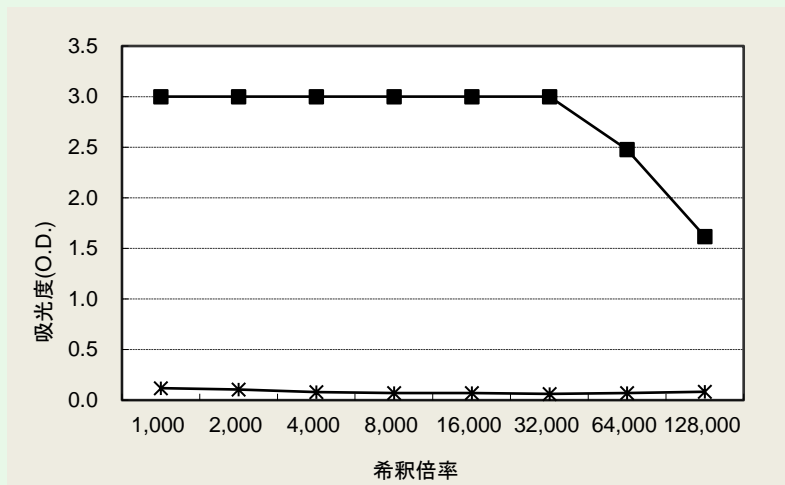


抗体の希釈倍率の目安

各アプリケーションにおける目安は以下の通りです。
 尚、抗体によって至適希釈倍率は異なります。適宜ご検討の上、ご使用ください。
血清: 1,000倍程度 / 精製抗体: 数100倍程度

ELISAデータから予測する場合

ウエスタンブロッティング: プレート値(3.0)を割る希釈倍率の約10倍よりお試しください
免疫染色など: プレート値(3.0)を割る希釈倍率の約100倍よりお試しください



<例> ウエスタンブロッティング: 約3,000倍 / 免染など: 約300倍

参考: ドットプロットを用いた至適希釈倍率の検討例

準備するもの

- * ニトロセルロースもしくは親水化処理済みのPVDFメンブレン
- * ブロッキングバッファー(0.2%Tween-PBSやブロックエース(DSファーマバイオメディカル株式会社)など)
- * 洗浄バッファー(PBS-TやTBS-Tなど)
- * 一次抗体(作製した抗体)
- * 二次抗体(抗ウサギ-HRPや抗マウス-HRPなど)
- * 発色もしくは化学発光試薬(DABやBCIP、ECL(GEヘルスケア・ジャパン株式会社)など)
- * X線フィルムもしくはCCDイメージャーなど(発色法の場合は不要)

方法

1. サンプルをピペットでメンブレン上に垂らし(ドットプロット)し、乾燥させる。※一次抗体の系列希釈分が必要です。
2. ブロッキングバッファーで約1時間ブロッキングを行う(室温)。
3. 洗浄バッファーで軽くすすいだ後、都度交換した洗浄バッファーで10分×2~3回程度の洗浄を行う(室温)。
4. 何段階かに系列希釈した一次抗体溶液中で約1時間振盪反応する(室温)。
5. 3.と同じ洗浄を行う。
6. 1,000~20,000倍に希釈した二次抗体溶液中で約1時間振盪反応する(室温)。
7. 3.と同じ洗浄を行う。
8. 発色**もしくは化学発光試薬**(検出試薬)で反応させた後、発色やX線フィルム、CCDイメージャーなどによりシグナルを検出する。

*至適希釈倍率は試薬説明書などをご確認ください / **反応方法などは試薬説明書などをご確認ください