

ウェスタンブロットニングの検出に

化学発光試薬

Western Blotting Luminol Reagent

Santa Cruz Biotechnology 社では、ウェスタンブロットニング化学発光検出用の Western Blotting Luminol Reagent を販売しております。Luminol は Horseradish Peroxidase (HRP) 標識二次抗体を用いた化学発光により迅速かつ高感度な検出ができます。

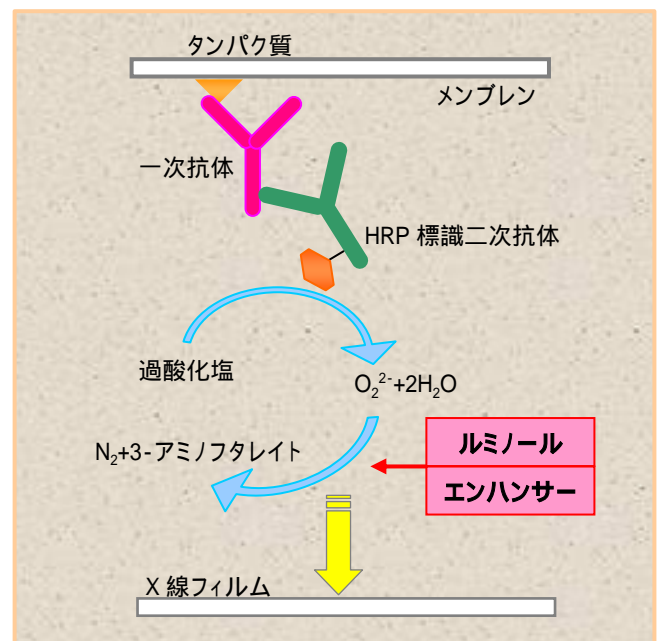
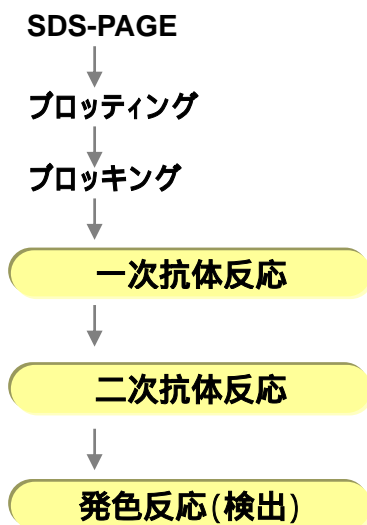
特長

発色法よりも迅速かつ
高感度な検出が可能

バックグラウンドが低く検出



ウェスタンブロットニング検出原理



操作手順

1. 転写

研究操作マニュアルまたは標準プロトコールにより、ニトロセルロース膜上にウェスタンブロット（転写）し、一次抗体反応前にブロッキングして下さい。

2. 一次抗体反応

希釈した一次抗体を反応させ（室温で約 1 時間振盪）、TBS-Tween で洗浄します。

3. 二次抗体反応

HRP 標識二次抗体で一次抗体を捕捉します。

- HRP 標識二次抗体 : sc-2004, sc-2005, sc-2006, sc-2020
- Cruz Marker™ 対応二次抗体 : sc-2030, sc-2031, sc-2032, sc-2033

メンブレンを 1xTBS, 0.05% Tween-20 で 5 分間 3 回洗浄し、1x TBS で 5 分間洗浄します。

- 1xTBS [1xTris buffered Saline(TBS):10 mM Tris-HCl,pH8.0; 150 mM NaCl]

4. 検出

等量の Solution A, Solution B を入れて混合します。

(メンブレン 1cm² 当たり 0.125 ml 使用)

ニトロセルロース膜から TBS を除き、混合した A,B (Luminol) 試薬溶液を加えて室温で正確に 1 分間インキュベートします。

この Luminol 試薬溶液を注ぎ出し、試薬を取り除きます。

又はピンセットでメンブレンを持ち上げ、メンブレンの端にキムワイブを押し当て試薬を取り除いても可。但しメンブレン膜表面を汚さないように注意して下さい。

メンブレンをラップで包みます。

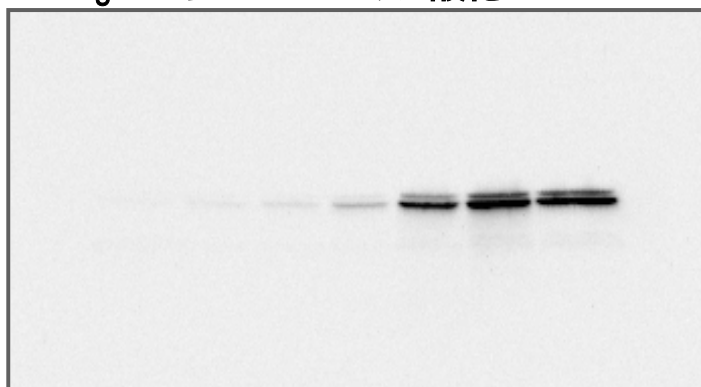
この際にメンブレンとプラスチックラップの間にシワや気泡ができないように注意。

フィルムカセット内に入れます。

暗室で、1 分間メンブレンをフィルムに露光しフィルムを現像します。

使用例

Heregulin による ERK リン酸化



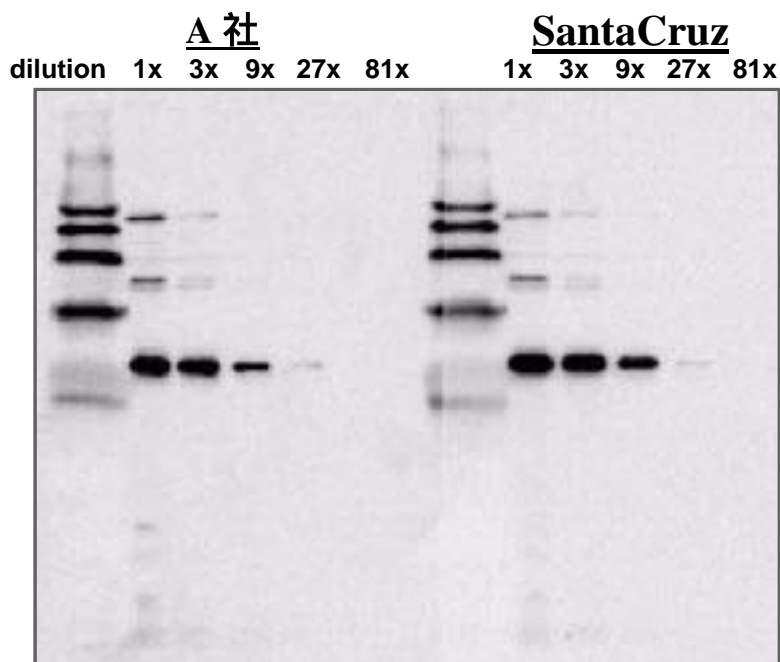
左から 0、20秒、40秒、1分、2分、5分、10分処理

一次抗体 : Anti- p-ERK
二次抗体 : Anti- Mouse IgG(H+L)(goat)
HRP 標識

<写真ご提供>
理化学研究所
ゲノム科学総合研究センター
情報伝達モデル化研究チーム

使用例

他社品との比較



サンプル: *E. coli* lysate (タンパク質: Htpx)
一次抗体: Anti- HtpX serum (1/ 5000)
二次抗体: Anti- Rabbit IgG-HRP (1/5000)

<写真ご提供>
京都大学ウイルス研究所
構造形成学研究分野
伊藤研究室 秋山 芳展 先生

Cruz MarkerTM Molecular Weight Standards

本製品は、プロットしたメンブレンや X 線フィルム上で分子量のバンドを可視化できます。従来のように2枚のゲルを使用して染色用(CBB 等)とプロット用を用意する必要もなく、また着色済みスタンダードのようにプロット上のマーカーとフィルム上の試料を照らし合わせるといった必要性もなくなり、より正確な分子量を推定することができます。

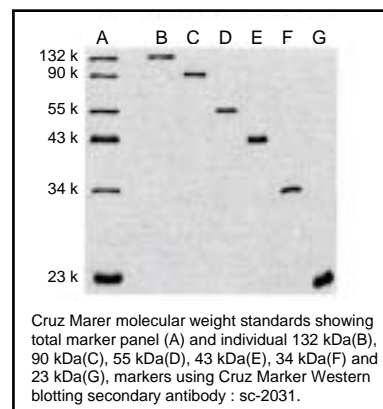
特長

メンブレン上でバンドの確認可能
より正確な分子量を推定

23, 34, 43, 55, 90, 132 kDa

そのまま SDS-PAGE に使用可能

時間・費用の節約



使用法

1. 本製品は、サンプルバッファーに溶解されているため、そのまま SDS-PAGE に使用することができます。
2. メンブレンへの転写を行い、その後 Cruz MarkerTM 対応の二次抗体を用いて、化学発光と発色法により検出できます。

価格表

発光試薬及び Cruz Marker™

| 製品名 | 貯法 | 製品番号 | 商品コード | 容量 | 価格 |
|---|----|---------|----------|-------|--------|
| Western Blotting Luminol Reagent | 冷蔵 | sc-2048 | 02862-60 | 1 Kit | 22,000 |
| Cruz Marker™ Molecular Weight Standards | 冷凍 | sc-2035 | | 50 回用 | 18,000 |

キットには 2000 cm²用の各 125 ml の Solution A と Solution B が含まれています。

Cruz Marker™ 対応二次抗体

| 製品名 | 貯法 | 製品番号 | 商品コード | 容量 | 価格 | |
|------------------------|--------|------|---------|----------|--------|--------|
| goat anti-rabbit IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2030 | 00994-84 | 200 µg | 14,000 |
| goat anti-mouse IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2031 | | 200 µg | 14,000 |
| goat anti-rat IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2032 | | 200 µg | 14,000 |
| donkey anti-goat IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2033 | 00967-44 | 200 µg | 14,000 |
| donkey anti-rabbit IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2317 | | 200 µg | 14,000 |
| donkey anti-mouse IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2318 | | 200 µg | 14,000 |
| bovine anti-goat IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2378 | | 200 µg | 14,000 |
| bovine anti-rabbit IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2379 | | 200 µg | 14,000 |
| bovine anti-mouse IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2080 | | 200 µg | 14,000 |

関連製品

| 製品名 | 貯法 | 製品番号 | 商品コード | 容量 | 価格 | |
|------------------------------------|--------|---------|---------|----------|--------|--------|
| goat anti-rabbit IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2004 | 00993-94 | 200 µg | 14,000 |
| goat anti-mouse IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2005 | 00990-24 | 200 µg | 14,000 |
| goat anti-rat IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2006 | | 200 µg | 14,000 |
| donkey anti-goat IgG | HRP 標識 | 冷蔵 | sc-2020 | 00966-54 | 200 µg | 14,000 |
| Nitrocellulose (pore size 0.22 µm) | 室温 | sc-3718 | | 3 m roll | 49,000 | |
| Nitrocellulose (pore size 0.45 µm) | 室温 | sc-3724 | | 3 m roll | 39,000 | |
| PVDF (pore size 0.45 µm) | 室温 | sc-3723 | | 3 m roll | 49,000 | |

注) HRP 標識抗体にはすべてチメロサルが含まれています。

マーカー類

| 製品名 | 貯法 | 規格 | 商品コード | 容量 | 価格 |
|---|----|----|----------|------------|--------|
| 新発売 プレステインド タンパク質マーカー(Broad Range) | 冷凍 | SP | 02525-35 | 500 µl | 13,000 |
| プレステインド タンパク質マーカー(High Range) | 冷凍 | SP | 26039-75 | 500 µl | 13,000 |
| プレステインド タンパク質マーカー(Low Range) | 冷凍 | SP | 28941-75 | 500 µl | 13,000 |
| プレステインド タンパク質マーカー(Low Range) | 冷凍 | SP | 28944-74 | 5 × 100 µl | 14,500 |
| 発売予定 タンパク質マーカー ビオチン標識 | 冷凍 | SP | | 400 µl | 23,000 |

ご注意 試験・研究用以外には使用しないで下さい。

* 価格には消費税は含まれておりません。

ナカライテスク株式会社

販売取扱店

〒604-0855 京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町 498

Web site <http://www.nacalai.co.jp>

価格・納期のご照会 **0120-489-552**

製品に関する技術的なご照会 E-mail: info-tech@nacalai.co.jp

TEL:075-211-2703 FAX:075-211-2673