

ELISA plate preparation Kit - IBL

96 Well

1. はじめに

本キットは、抗体や抗原タンパク質などを 96Well マイクロプレートに固相化するためのバッファーセットです。精製タンパク質、合成ペプチドなどを固相した場合、ELISA による抗体価の測定、ハイブリドーマのスクリーニングなどに使用できます。また、検出用抗体を固相すればサンドイッチ ELISA で使用できます。

(なお、別途抗体、抗原タンパク質およびマイクロプレートが必要になります)

2. サンドイッチ ELISA によるタンパク量測定の原理および測定方法

本キットを用いて 1 次抗体をプレートに固相化し、検体および標準物質を加え、1 次反応をおこない洗浄後、標識された 2 次抗体を加え 2 次反応をおこないます。反応後、過剰の 2 次抗体を洗浄除去します。Tetramethyl Benzidine (TMB) などにより発色させます。この呈色は標的物質の量に比例します。

3. 構成試薬

1 固相化用緩衝液 (0.1 M 炭酸緩衝液)	11mL x 1
2 洗浄液 (0.05 % NaN_3 含有 PBS)	50mL x 1
3 ブロッキング液 (1 % BSA, 0.05 % NaN_3 含有 PBS)	30mL x 1
4 プレートシール	2

4. 用法および用量 (操作方法)

(1) 必要な器具器材

- ・96 well マイクロプレート (NUNC 社など)
- ・固相用抗体、あるいは精製タンパク質、合成ペプチドなどの固相用抗原
- ・メスシリンダーおよびビーカー
- ・洗浄ピン
- ・マイクロピペットおよびチップ
- ・ペーパータオル
- ・冷蔵庫 (2~8℃ として)

(2) 操作方法 (一例として、抗体を固相する場合を記します)

試薬は使用前に常温に戻し、数回静かに転倒混和し変化のない事を確かめてください。

- 1 抗体溶液作製に使用する抗体を必要量準備します。
(一例として: $2\mu\text{g}/100\mu\text{L}/\text{Well} \times 96\text{Well}$ の場合は、 $200\mu\text{g}$ 準備)
- 2 抗体 $200\mu\text{g}$ を固相化用緩衝液 10mL に溶解し、静かに 5 分間攪拌し、抗体溶液とします。
- 3 96well マイクロプレートの各 Well へ抗体溶液を $100\mu\text{L}$ ずつ添加します。
- 4 プレートシールをして 2~8℃ 一晩静置します。
- 5 抗体溶液を除去し、洗浄液 $200\mu\text{L}/\text{Well}$ にて 2 回洗浄します。
- 6 残った洗浄液をペーパータオルの上などで除去し、ブロッキング液を $200\mu\text{L}/\text{Well}$ 添加します。
- 7 プレートシールをして使用時まで 2~8℃ で保存します。乾燥しない状態で 6 ヶ月程度は安定にご使用になれます。
ご使用前にはブロッキング液を除去し、洗浄液 $200\mu\text{L}/\text{Well}$ にて 2 回洗浄した後ご使用ください。

	操 作
準 備	抗体を固相化緩衝液に溶解
固 相	抗体溶液 $100\mu\text{L}/\text{Well}$ 添加
	プレートシールをして 2~8℃ 一晩静置
洗浄	2 回
ブロッキング	ブロッキング液 $200\mu\text{L}/\text{well}$ 添加
	プレートシールをして 2~8℃ で保存

5. 保存方法および有効期限

2~8℃ 保存

有効期限 12 ヶ月