

ECL Prime へ変更時のポイント ~さらに最適な結果を得るために~

ECL Plus ⇒ ECL Prime

ECL Prime は、ECL Plus と同等の条件および操作手順で検出可能です。ECL Plus よりも検出感度が向上します。以下の留意点を加味することで、さらにより結果を得ることが可能です。

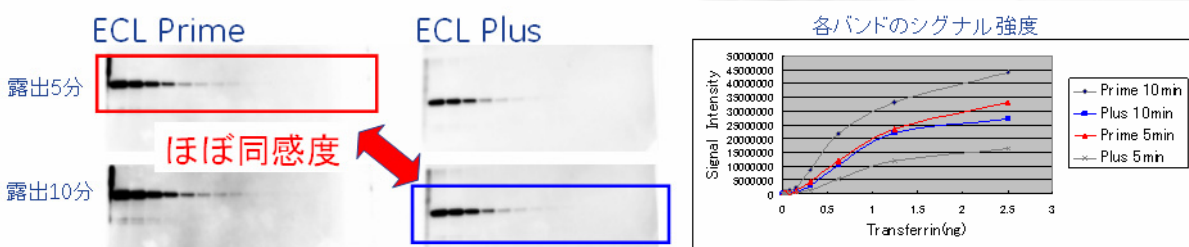
【留意点】

ECL Prime は ECL Plus より 2~5 倍感度が高い試薬です

- ECL Plus と同じ露出時間で検出をするとバックグラウンドが高くなることやムラが検出されることがあります。
- ECL Plus で十分なシグナル強度が得られていたサンプルは、ECL Prime ではシグナルがサチュレーション（飽和）することがあります。

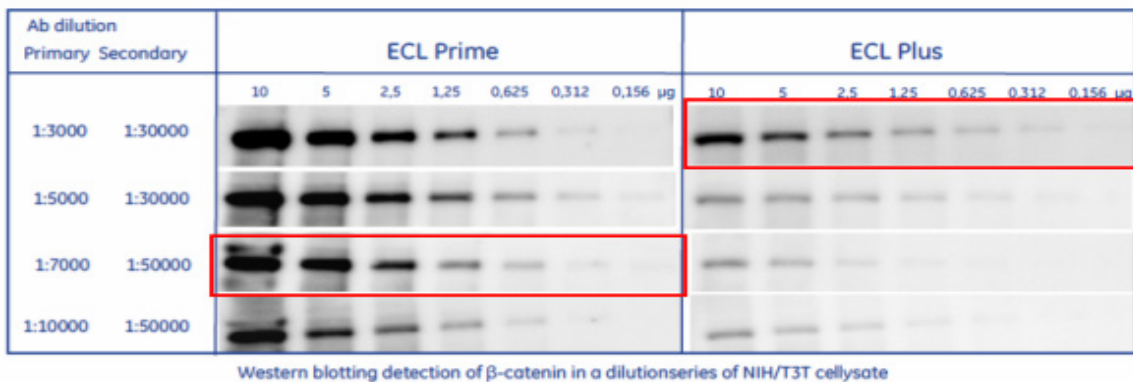
【対処方法】 ※対処方法はおすすめ順に掲載しています。1 つずつ試していただき場合に応じて対処方法を組合せていただいても結構です。

1, 露出時間を ECL Plus 検出時の半分にする(サンプル量を半分でも OK)



2, 抗体濃度を ECL Plus 検出時よりも薄くする

希釈倍率は使用する抗体により異なります。目安は一次抗体、二次抗体ともに ECL Plus 検出時よりも約 2 倍希釈します。



3, 一次抗体、二次抗体をブロッキング剤入りの PBS-T (TBS-T) で溶解し、抗体反応を行う

この方法はバックグラウンドの低減に有効ですが、感度は下がります。露出時間を延ばして感度を調整してください。

| Prime | Plus | Prime | Prime |
|-------------------------------------|-------------------------------------|---|---|
| 抗体反応時 ブロッキング剤なし | 抗体反応時 ブロッキング剤なし | 抗体反応時 ブロッキング剤あり | 抗体反応時 ブロッキング剤あり |
| [Western blot image] | [Western blot image] | [Western blot image] | [Western blot image] |
| 露出10分 1・2次抗体をPBS-Tに溶解し 抗体反応実施 | 露出10分 1・2次抗体をPBS-Tに溶 解し抗体反応実施 | 露出10分 1・2次抗体を5%BSAを含 むPBS-Tに溶解し抗体反 応実施 | 露出30分 1・2次抗体を5%BSAを含 むPBS-Tに溶解し抗体反 応実施 |

4, ブロッキング反応を Over night 4°Cで行う

ECL Advance ⇒ ECL Prime

ECL Advance で検出していたタンパク質を、ECL Prime でも検出できる場合があります。ECL Prime と ECL Advance では、使用する抗体濃度、バッファーやブロッキング剤が異なりますので、以下の点を参考にお試しください。

必要な試薬や抗体希釈率の違い

| | ECL Prime | ECL Advance |
|------------------------|--|--|
| 一次抗体希釈倍率 ^{*1} | 1:1,000 - 1:50,000 | 1:10,000 - 1:100,000 |
| 二次抗体希釈倍率 ^{*1} | 1:50,000 - 1:250,000 | 1:50,000 - 1:500,000 |
| ブロッキング剤 | 2% ECL Advance Blocking Reagent (RPN418) もしくは 5% ECL Blocking Agent (RPN2125) 一般的な試薬(スキムミルク、BSA など) | 2% ECL Advance Blocking Reagent (RPN418) |
| 抗体希釈溶液 | PBS-T / TBS-T ² | 2% ECL Advance Blocking Reagent (RPN418) |

*1 ストック抗体濃度が 1 mg/ml のときの目安

*2 感度が低下する場合がありますので、ブロッキング剤は使用しないことをおすすめします。

【留意点】

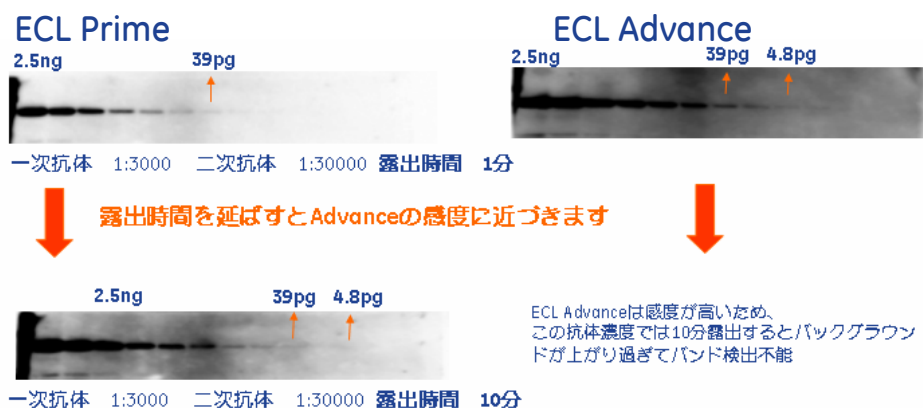
ECL Advance は、ECL Prime より 5~8 倍高感度な試薬です。

ECL Advance で検討した抗体濃度で ECL Prime を使用すると、バンドが薄くなる場合があります。

【対処方法】

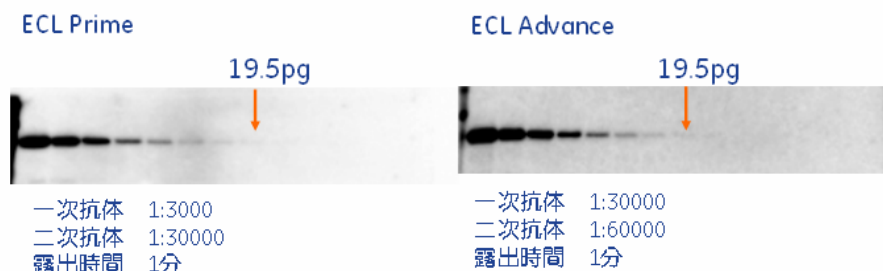
1, 露出時間を延ばす

同一抗体濃度、同一条件で検出した場合に約 8 倍の感度差がみられましたが、ECL Prime の露出時間を延ばすことで ECL Advance の感度に近づきました。



2, 抗体濃度をあげる

結果 ECL Advance に対して、一次抗体を 10 倍、二次抗体を 2 倍の濃さにすることでほぼ同等の検出感度が得られることがわかりました。



GEヘルスケア・ジャパン株式会社

ライフサイエンス統括本部

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336 FAX: 03-5331-9370

e-mail: Tech-JP@ge.com



ISO 9001:2008 認証取得

71-3439-32