

OneStep Blocker 取扱説明書

Western Blocking Solution and Signal Enhancer

型番	容量	使用量
BS001-B100MLN	100ml	任意 (1 ml ~)
BS001-B250MLN	250ml	
BS001-B500MLN	500ml	

保存方法：4℃ 保存期間：1年

【製品について】

ワンステップブロッカーはウェスタンブロット分析のブロッキングソリューションです。

この OneStep Blocker バッファーは、一液でブロッキングと一次および二次抗体のハイブリダイゼーションをするだけでなく、HRP (西洋ワサビペルオキシダーゼ) または AP (アルカリホスファターゼ) 基質で検出するシグナルを増強します。また、3段階の手順の時間と労力を要するウェスタン手順を短縮できます。蛍光によるウェスタンブロットの検出も可能です。(蛍光検出法)

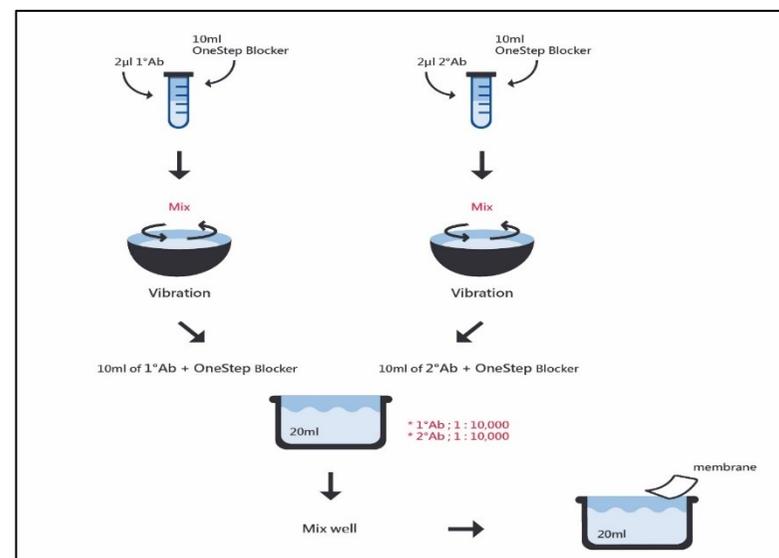
【使用方法】 OneStep Blocker は、抗体の使用したい希釈率に応じて、抗体を希釈する溶液として使用します。

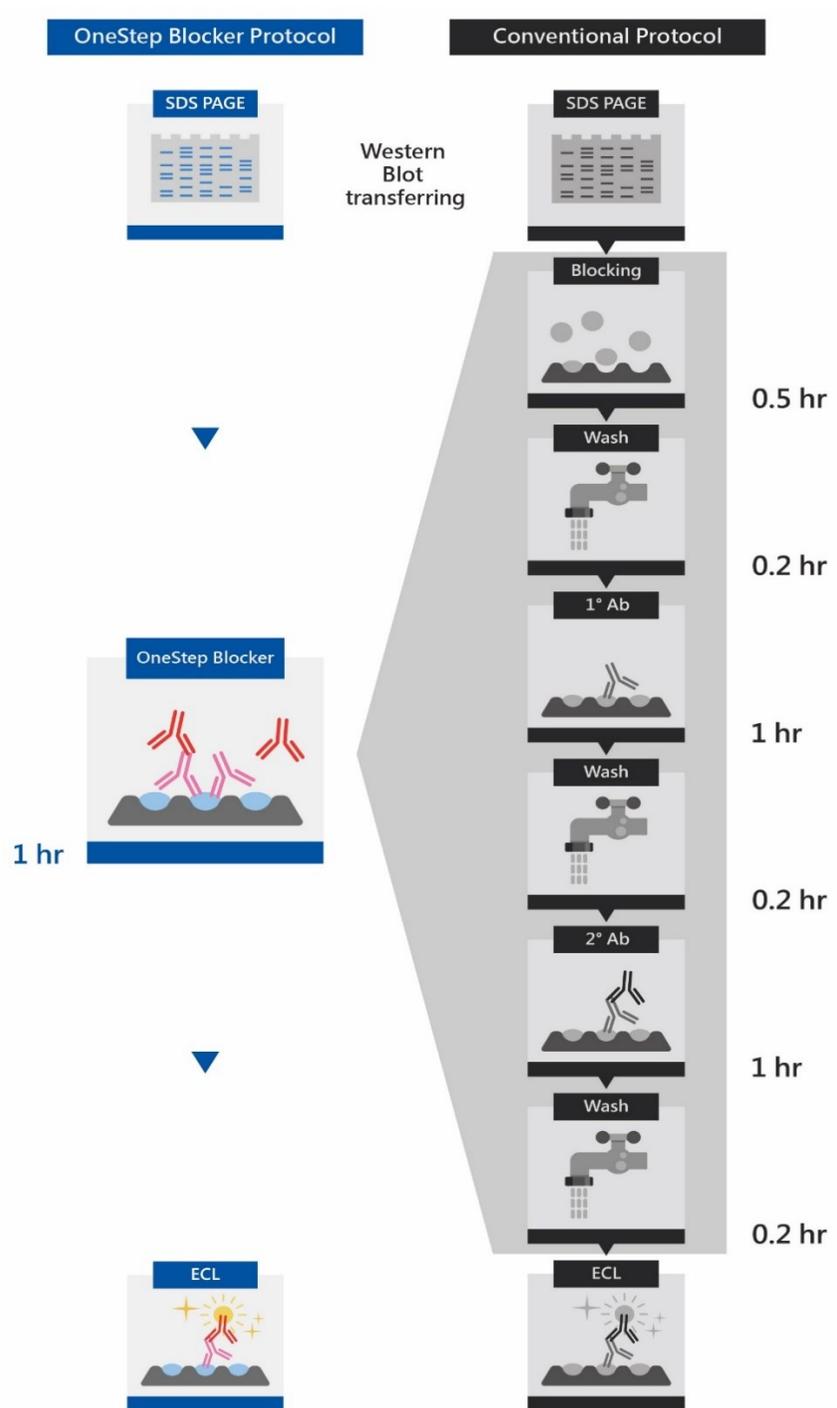
・例：20ml/枚のとき

- ウェスタンブロット転写後、PBS または PBST/TBST バッファーに PVDF 膜または NC 膜を 5 分間浸します。
- 一次抗体および二次抗体を適切な量の本試薬で希釈します。
 - 例えば、一次抗体と二次抗体の希釈倍率が 1:10,000 である場合、
2 μ l の一次抗体を 10ml の OneStep Blocker 溶液 (1 tube) に加えます。
続いて、2 μ l の二次抗体を 10ml の OneStep Blocker 溶液 (2 tube) に加えます。
 - 抗体を加えた OneStep Blocker 溶液を良く混合します。
 - 容器に 10ml の 1 tube 溶液を最初に注ぎ、続いて 10ml の 2 tube 溶液を同じ容器に注ぎます。
(合計 20ml ※抗体の分量は省略)
- 穏やかに混合しながら、抗体の入った OneStep Blocker 溶液中にメンブレンを浸漬させ、室温で 1~2 時間インキュベートします。
※一次抗体および二次抗体を混合した後、最適な性能を得るために混合溶液に 10 分以内にメンブレンを浸漬してください。
- メンブレンを PBS または PBST/TBST バッファーで 5 分を 3 回振とうしながら洗浄します。
- 洗浄バッファーを捨て、基質を使用して撮影をします。

・例：10ml/枚のとき

- ウェスタンブロット転写後、PBS または PBST/TBST バッファーに PVDF 膜または NC 膜を 5 分間浸します。
- 一次抗体および二次抗体を適切な量の本試薬で希釈します。
 - 例えば、一次抗体と二次抗体の希釈倍率が 1:10,000 である場合、
1 μ l の一次抗体を 5ml の OneStep Blocker 溶液 (1 tube) に加えます。
続いて、1 μ l の二次抗体を 5ml の OneStep Blocker 溶液 (2 tube) に加えます。
 - 抗体を加えた OneStep Blocker 溶液を良く混合します。
 - ハイブリバッグに 5ml の 1 tube 溶液を最初に注ぎ、続いて 5ml の 2 tube 溶液を注ぎます。
(合計 10ml ※抗体の分量は省略)
- ハイブリバッグ中の抗体の入った OneStep Blocker 溶液中にメンブレンを浸漬させ、メンブレンよりも各辺 5mm ほど余裕を持たせてシーリングします。この時、なるべくエアアーを抜きます。
※一次抗体および二次抗体を混合した後、最適な性能を得るために混合溶液に 10 分以内にメンブレンを浸漬してください。
- 正方形 15cm 程度、厚さ 3mm 程度のガラス板もしくは、プラスチック製の板を 2 枚とクリップ 4 個を用意し、ハイブリバッグを板で挟み四隅をクリップで固定します。
- 水平方向に攪拌し、室温で 1~2 時間インキュベートします。
- メンブレンを PBS または PBST/TBST バッファーで 5 分を 3 回振とうしながら洗浄します。
- 洗浄バッファーを捨て、基質を使用して撮影をします。





【注意点】

- (1) 一次抗体と二次抗体を混合した後、最適な性能を得るためには、直ちにメンブレンを混合液に10分以内に浸漬する必要があることに注意してください。
- (2) 二次抗体の希釈度は少なくとも1：10,000以上であること。高いレベルのバックグラウンドノイズは、二次抗体が高濃度の可能性があります。
- (3) バックグラウンドが高くなるように、OneStep Blocker で4時間以上メンブレンをインキュベートしないでください。
- (4) OneStep Blocker 溶液に混合された一次抗体また二次抗体は、3日以内に再使用することができます。ただし、増強効果は、蓄積時間の増加とともに減少します。
この場合の混合溶液は冷蔵保存をしてください。
- (5) 抗体濃度が高すぎたり、長時間インキュベーションした場合、バックグラウンドが高くなります。過度のバックグラウンドが発生した場合は、以下を試してください。
 - a) 一次抗体／二次抗体の濃度を低くする。最適化をする。
 - b) ドットプロット試験を用いて抗体濃度の最適化をする。
 - c) インキュベーション時間の短縮、最適化をする。

※本製品は試験研究用です。



ジェレックスインターナショナル株式会社

〒194-0037 東京都町田市木曽西 4-8-48

TEL: 042-792-3981 FAX: 042-792-3982

info@gellex.jp