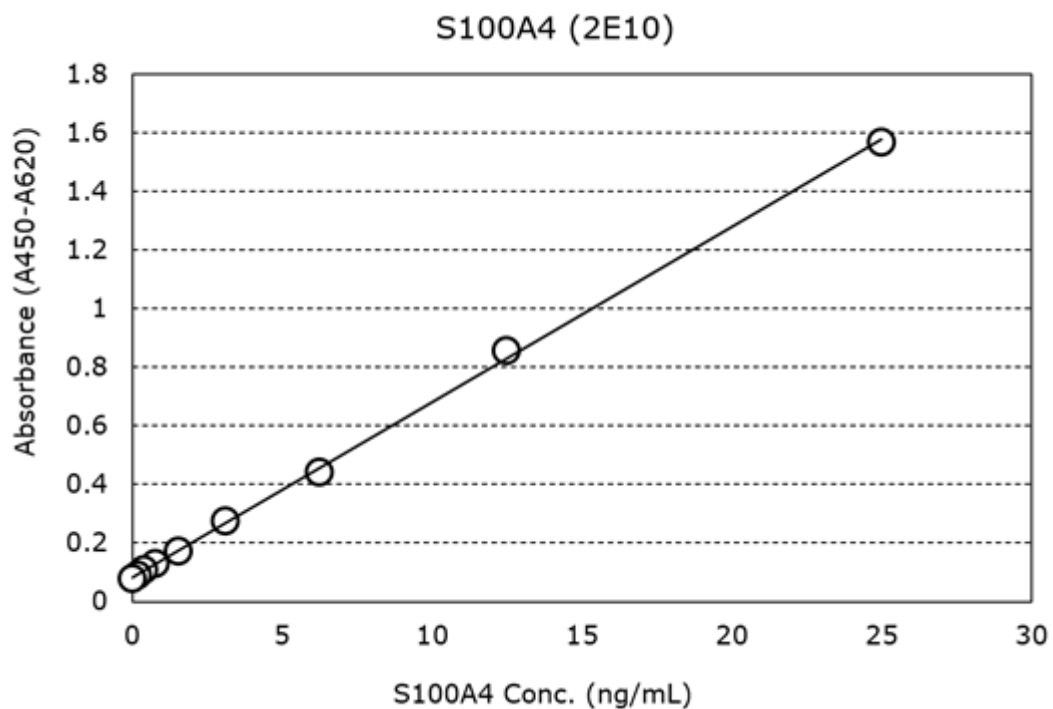


PP-2E10-0C を固相抗体として使用した ELISA 汎用プロトコル

- 1) 5 μ g/mL になるよう希釈した PP-2E10-0C を、100 μ L ずつ 96 ウェルプレートに分注し、4 $^{\circ}$ Cで一晩静置する。
- 2) 1)のプレートを PBST で 5 回洗浄し、ブロッキング溶液を 200 μ L ずつ分注して室温で 1 時間以上静置する。
- 3) 2)のプレートを PBST で 5 回洗浄し、適宜希釈した S100A4 抗原サンプルを 100 μ L ずつ 96 ウェルプレートに分注し、室温で 750rpm・1 時間反応させる。
- 4) 3)のプレートを PBST で 5 回洗浄し、約 0.1 μ g/mL (5,000 倍希釈) になるよう希釈した HRP 標識 S100A4 抗体 (PP-2H4-0C) を 100 μ L ずつ 96 ウェルプレートに分注し、室温で 750rpm・1 時間反応させる。
- 5) 4)のプレートを PBST で 5 回洗浄し、発色液を 100 μ L ずつ 96 ウェルプレートに分注し、室温・暗所で静置する。
- 6) 発色を確認したら、停止液を 100 μ L ずつ 96 ウェルプレートに分注し、室温で 600rpm・1 分攪拌した後にプレートリーダーで測定する (主波長 450nm、副波長 620nm)。

※注意点

- ・ 上記プロトコルに記載した固相濃度及び標識抗体濃度については、お客様の実験条件に合わせて適宜至適化を行って下さい。
- ・ 精製ヒト S100A4 タンパク質の他、ヒト血清中 S100A4 濃度測定が可能です。その場合、血清はサンプル希釈液で 10 倍に希釈してご使用下さい。
- ・ 固相濃度を 5 μ g/mL として PP-2E10-0C を使用する場合、100 μ L 分注品では 96 ウェルプレート 2 枚分です。
- ・ PP-2H4-0C (HRP 標識抗体) を 0.1 μ g/mL で使用する場合、50 μ L 分注品では 96 ウェルプレート 25 枚分です。
- ・ PPMX で実施した際の各種条件は以下の通りです
 - 固相時の希釈液：DPBS
 - ブロッキング溶液、抗原希釈液：40%Block Ace(DS ファーマ)/TBS
 - 洗浄液及び条件：PBST, 400 μ L/well $\times$ 5 回
 - HRP 標識抗体：PP-2H4-0C
 - 標識抗体希釈液：10%Block Ace(DS ファーマ)/TBS
 - 発色液：TMB 発色液 (SCYTEC)
 - 停止液：1mol/L 塩酸 (和光純薬)
 - 発色時間：30 分



Antibody	n = 3
conc. (ng/ml)	Lot No.
	B-1
0.195	0.091
0.390	0.108
0.781	0.128
1.563	0.171
3.125	0.273
6.250	0.440
12.500	0.855
25.000	1.567