

抗ウェルシュ菌エンテロトキシン抗体、ウサギポリクローナル

商品コード	64-052
容量	200 µg
保存	-20℃
濃度	4mg/ml
バッファー	PBS- with 50% glycerol
純度	ウサギ抗血清から proteinA で精製した
抗原	Clostridium perfringens, NCTC8239 株より高純度エンテロトキシン(BioAcademia 01-509)
アイソタイプ	ウサギ IgG
反応性	ウェルシュ菌エンテロトキシン(食中毒菌株)
特記事項	N/A
アプリケーション	1. ウェスタンブロット(1/1000-1/2000) 2. ドットブロット(1/20,0001/100,000) 3. 免疫沈降法(1/200-1/500) 4. ELISA (1/1000)
背景	Clostridium perfringens エンテロトキシン(CPE)は、食中毒および胃腸疾患の原因となる大多数の C. perfringens 株(A 型、C 型、D 型および E 型株)によって産生される蛋白質毒素である。CPE は、上皮細胞膜の密着結合の構成要素である Claudin ファミリータンパク質の膜に結合した後、そのホスホリパーゼ活性によって動物の細胞膜構造を破壊する。CPE は Claudin 3、4、6、7、8 および 14 に結合するが、Claudin 1、2、5 および 10 には結合しない。 詳しくは、藤田 K ら「Clostridium perfringens エンテロトキシンは密着結合内在性膜蛋白質である claudin-3 の 2 番目の細胞外ループに結合する。」FEBS Lett 476: 258-261 (2000) PMID: 10913624 (Link)を参照のこと
Data Link	UniProtKB: P01558 (ELTB_CLOPE)
※本製品は研究用です。診断および軍事目的に使用することはできません。	

画像: 64-052 抗ウエルシュ菌エンテロトキシン抗体、ウサギポリクローナル

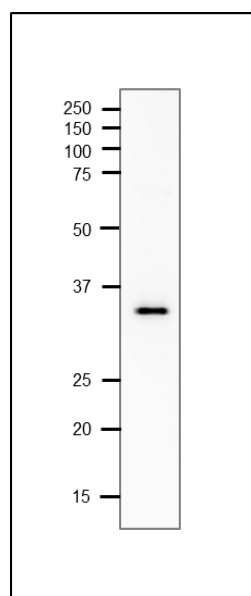


図 1 C. perfringens の培養上清中の CPE のウェスタンブロット。

試料中の蛋白質は 12.5% SDS - PAGE で分離した。

15V、ウェットシステムで一晩、PVDF 膜上にブロット。

5%脱脂乳で 1 時間振り混ぜてブロックし、TBST 緩衝液で洗浄。

抗 CPE 抗体を 1 μ g/ml で使用し、室温で 1 時間インキュベートした。膜を TBST 緩衝液中で 5 分間インキュベートし、同じ緩衝液で 3 回洗浄した

第 2 の抗体、ヤギ抗ウサギ IgG H & L (HRP) (ab97051)を 1/20,000 で使用し、室温で 1 時間インキュベートした。洗浄は TBST 緩衝液で前の 3 回行った。

BioRad ECL システムで可視化

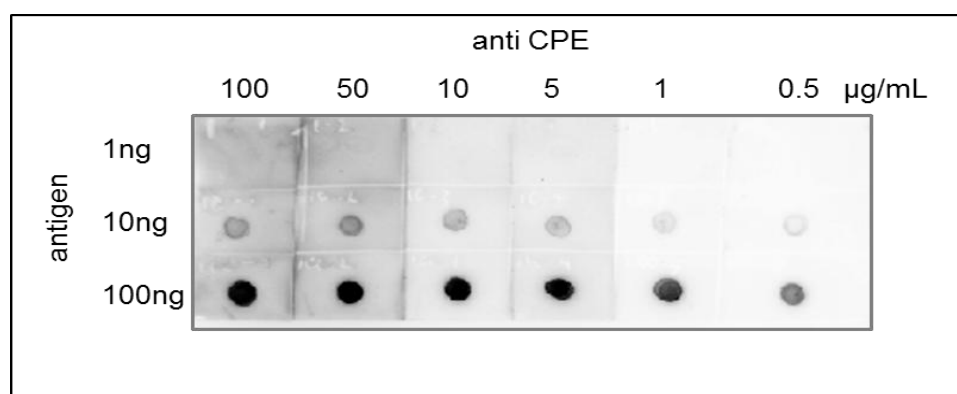


図 2 抗 CPE 抗体による CPE のドットブロット。

精製 C.perfringence エンテロトキシンの指示量をニトロセルロース膜上にスポットし、抗 CPE 抗体の指示濃度と 60 分間反応させた。2 番目の抗体として、ヤギ抗ウサギ IgG H & L (HRP) (ab97051)を 1/20,000 希釈で 60 分間反応させた。

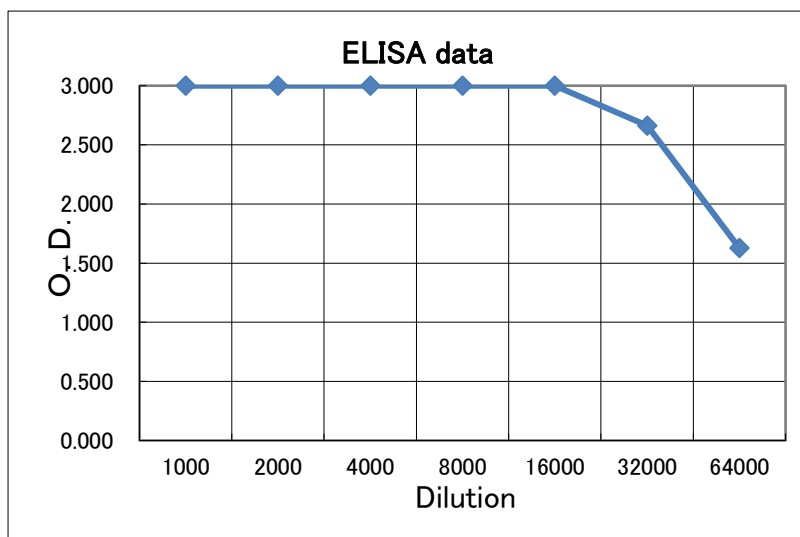


Fig.3.間接 ELISA による抗体の抗 CPE 抗体活性の滴定

プレートはウェルあたり 0.2 μ g の *C.perfringens* エンテロトキシン(BioAcademia 01 - 509)と 100 μ l の抗 *C.perfringens* でコーティングした指示された希釈のエンテロトキシン抗体を各ウェルに加え、インキュベートした。洗浄後、二次抗体として HRP を結合させたヤギ抗ウサギ-IgG を添加した。TMB を基質として発色した。洗浄後、二次抗体として HRP(ab97051)を結合させたヤギ抗ウサギ-IgG を添加した。TMB を基質として発色した。光学濃度(O.D.)は 490nm で測定した。

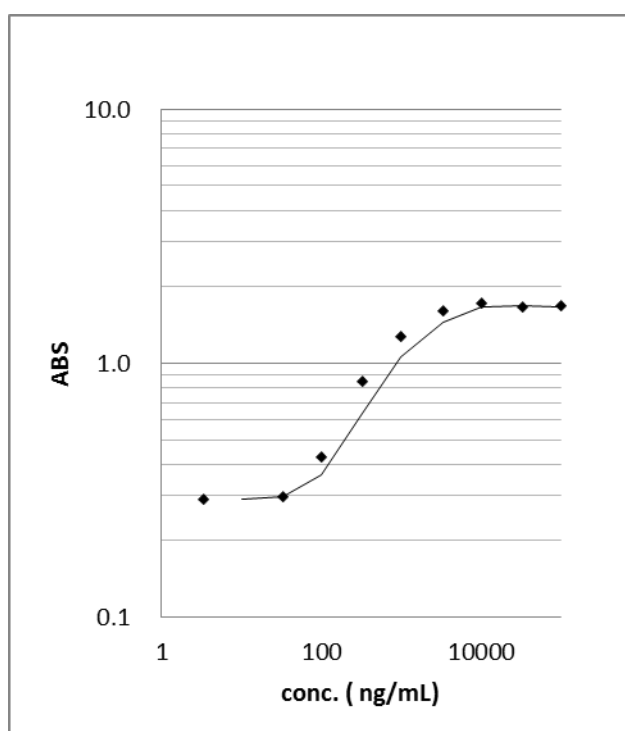


Fig.4.抗 CPE 抗体を用いた間接 ELISA による C. perfringens のエンテロトキシンの滴定

ELISA プレートに、示された濃度の *C. perfringens* エンテロトキシン/ウェルで 100 μ l コートした。抗 CPE 抗体は 1/1000 希釈で使用した。図 2 と同様に ELISA を行った。