

● **TOYOBO BIOCHEMICAL PRODUCTS** ●
(Diagnostic Reagent Grade)

Blocking Peptide Fragment

from Microorganism

PREPARATION and SPECIFICATION

Appearance	: White amorphous powder, lyophilized
Grade	: Grade III
Contaminants	: Inorganic phosphate ≤0.01mg/g Alkaline phosphatase ≤1 × 10 ⁻⁴ U/mg

PROPERTIES

Stability	: Stable at 4°C for at least 6 months	(Fig.4)
Molecular weight	: approx. 22,000 (SDS-PAGE)	

APPLICATIONS

This peptide fragment is useful as a blocking reagent for ELISA, being an alternative to BSA.

FEATURES

1. Efficiency	: Excellent blocking performance.	(Fig.1)
2. Operation Tim	: Shorter time of operation	(Fig.2)
3. Sensitivity	: No interference on ELISA assay	(Fig.3)

Examples

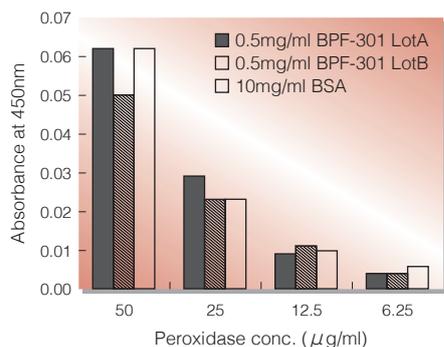


Fig. 1. BPF-BSA Comparison: Blocking Efficiency

Peroxidase solutions containing BPF-301 or BSA were added to 96 wells polystyrene plate. The plate was incubated at 37°C for 1hr and then washed with 0.02% Tween20. The blocking performance was evaluated by measuring the peroxidase activities retained on polystyrene plate. The lower absorbance shows the higher blocking performance. Blocking performance of BPF-301 is much higher than that of BSA.

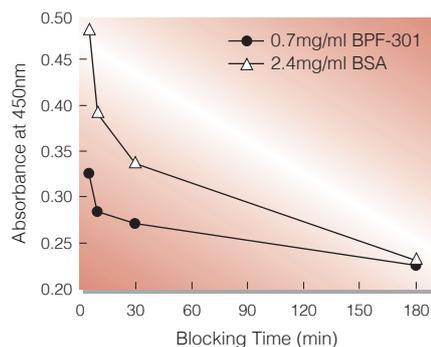


Fig. 2. BPF-BSA Comparison: Blocking Time

BPF-301 or BSA solution was added to 96 wells polystyrene plate. The plate containing these blocking reagent was incubated at 4°C for 5~180 minutes, and then washed with 0.02% Tween20. The blocking performance was measured by human serum and anti-human IgG goat antibody POD conjugate system. Operation time required for blocking reaction is shorter than that of BSA.

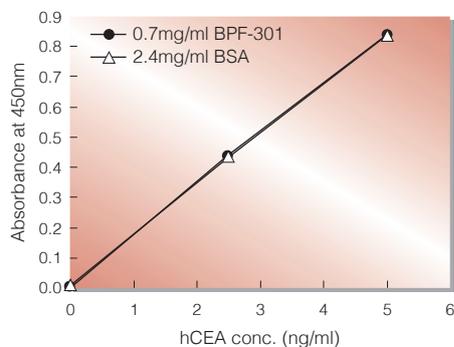


Fig. 3. BPF-BSA Comparison: Measuring sensitivity

BPF-301 or BSA was used as a blocking reagent in ELISA assay for detection of hCEA. It was shown that no interference on ELISA assay was found in BPF-301.

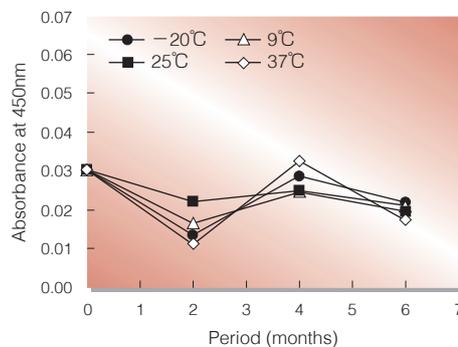


Fig. 4. Stability (Powder form)

Blocking performance was measured by the method mentioned in Fig. 1.

使用例 (Japanese)

例-1：ブロッキング能の簡易測定法

1. 試薬

- A. BPF溶液
: 5mgのBPF-301をPBS 10mlに溶解する。
- B. BSA溶液(対照実験用)
: 100mgのBSAをPBS 10mlに溶解する。
- C. POD溶液
: 2mgのPeroxidase(TOYOBO PEO-131)を上記BPF溶液又はBSA溶液1mlに溶解する。
- D. プレート洗浄液
: 0.02gのTween20を100mlのPBSに溶解する。
- E. TMB溶液
: BioRad TMB substrate Kit (Cat.No.:172-1067)

2. 手順

1. BPF溶液(試薬A)又はBSA溶液(試薬B)により、POD溶液(試薬C)を希釈する。
2. 上記POD希釈液100 μ lを96穴ポリスチレンプレートに添加、室温にて1時間インキュベートする。
3. プレート中の溶液を捨て、プレート洗浄液(試薬D)によりプレートを洗浄する。
4. TMB溶液(試薬E)100 μ lを添加、37 $^{\circ}$ Cにて10分間インキュベートし発色させる。
5. 1N H₂SO₄ 100 μ lの添加により反応を停止した後、450nmにおける吸光度を測定する。吸光度が低いほどブロッキング能が高い。

3. 結果

優れたブロッキング能が確認された。(Fig.1参照)

例-2：BPF-301とBSAの操作時間の比較

1. 試薬

- A. BPF溶液
: 7mgのBPF-301を10mlの20mM Tris-HCl, pH7.0に溶解する。
- B. BSA溶液(対照実験用)
: 24mgのBSAを10mlの20mM Tris-HCl, pH7.0に溶解する。
- C. ヒト血清希釈液
: PBSにてヒト血清を希釈する(50倍希釈)。
- D. プレート洗浄液
: 0.02gのTween20を100mlのPBSに溶解する。
- E. TMB溶液
: BioRad TMB substrate Kit (Cat.No.:172-1067)
- F. anti-human IgG goat antibody POD conjugate

2. 手順

1. BPF溶液(試薬A)又はBSA溶液(試薬B)100 μ lを96穴ポリスチレンプレートに添加、4 $^{\circ}$ Cにて数分～3時間インキュベートする。
2. プレート中の溶液を捨て、ヒト血清希釈液(試薬C)25 μ lを添加する。
3. プレート中の溶液を捨て、プレート洗浄液(試薬D)によりプレートを洗浄する。
4. anti-human IgG goat antibody POD conjugate(試薬F)50 μ lを添加、37 $^{\circ}$ Cにて1時間インキュベートする。
5. プレート中の溶液を捨て、プレート洗浄液(試薬D)によりプレートを洗浄する。
6. TMB溶液(試薬E)50 μ lを添加、室温にて5分間インキュベートし発色させる。
7. 1N H₂SO₄ 50 μ lの添加により反応を停止した後、450nmにおける吸光度を測定する。吸光度が低いほどブロッキング能が高い。

3. 結果

BSAより短い操作時間で高いブロッキング能が得られた。操作時間は30分間で十分であった。(Fig.2参照)

(例-3は次頁)

例-3：BPFとBSAの感度比較

1. 試薬

- A. BPF溶液
：7mgのBPF-301を10mlの20mM Tris-HCl, pH7.0に溶解する。
- B. BSA溶液(対照実験用)
：24mgのBSAを10mlの20mM Tris-HCl, pH7.0に溶解する。
- C. プレート洗浄液
：0.02gのTween20を100mlのPBSに溶解する。
- D. TMB溶液
：BioRad TMB substrate Kit (Cat.No.:172-1067)
- E. hCEA MoAb溶液
：carbonate buffer, pH9.6にてhCEAを希釈する(10ug/ml)。
- F. CEA MoAb-POD conjugate
：carbonate buffer, pH9.6にてCEA MoAb-POD conjugateを希釈する(250倍希釈)。
- G. hCEA 標準液

2. 手順

1. hCEA MoAb(試薬E)100 μ lを96穴ポリスチレンプレートに添加, 37 $^{\circ}$ Cにて1時間インキュベートする。
2. BPF溶液(試薬A)又はBSA溶液(試薬B)100 μ lを添加, 4 $^{\circ}$ Cにて3時間インキュベートする。
3. プレート中の溶液を捨て, hCEA 標準液(試薬G)50 μ lを添加, 37 $^{\circ}$ Cにて1時間インキュベートする。
4. プレート中の溶液を捨て, プレート洗浄液(試薬C)にてプレートを洗浄する。
5. CEA MoAb-POD conjugate(試薬F)50 μ lを添加, 37 $^{\circ}$ Cにて1時間インキュベートする。
6. プレート中の溶液を捨て, プレート洗浄液(試薬C)にてプレートを洗浄する。
7. TMB溶液(試薬D)50 μ lを添加, 室温にて5分間インキュベートし発色させる。
8. 1N H₂SO₄ 50 μ lの添加により反応を停止した後, 450nmにおける吸光度を測定する。吸光度が低いほどブロッキング能が高い。

3. 結果

ELISAアッセイへの阻害は全く検出されなかった。
(Fig.3参照)