



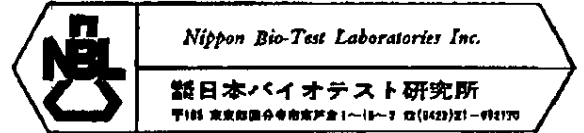
Monoclonal Antibody to Human myoglobin (KO-021)

CATALOG NUMBER:	NBT-MKO-021
QUANTITY:	1mg
CLONE:	KO-021
SOURCE OF ANTIGEN:	Purified Myoglobin of human heart muscle
SOURCE:	BALB/C Mouse implantation ascites
FORMAT:	Purified Protein
CONCENTRATION:	10mg/ml
ISOTYPE:	IgG2bk
PURIFY:	proteinA column chromatography
PURITY:	1 band (IgG2bk) Cellulose acetate Electrophoresis
PRESENTATION:	Liquid in 10mM phosphate buffer with 0.15M NaCl , pH7.4, 0.1% Sodium Azide
STORAGE/HANDLING:	Maintain at 4 °C-8 °C (-20 °C for long term storage) in undiluted aliquots. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

For research use only; not for use as a diagnostic.



#MK0001~026 (NBT)



略号 NBT

MKOシリーズ

カタログ番号 MK-001~

品名 抗ヒトミオグロビン モノクローナル抗体

本抗体はヒト心筋由来ミオグロビンをBALB/Cマウスに免疫し得た細胞とマウスミエローマ細胞(P3U1)とをポリエチレングリコール法により融合し作製されたハイブリドーマをマウス腹腔で増殖させ、その腹水液を硫酸分画及びDEAEイオン交換クロマトグラフィーによって精製したマウスモノクローナル抗体です。

抗原：精製ヒト心筋ミオグロビン(Myoglobin)

特性：表に示す

カタログNo.	クローンNo.	サブクラス	特性
MKO-001	KO-001	IgG 1	液相で抗原と強く反応する
002	002	IgG 1	"
021	021	IgG 2b κ	"
022	022	IgG 2b κ	"
023	023	IgG 2b κ	"
024	024	IgG 2b κ	"
026	026	IgG 1 κ	"

☆ミオグロビン特異抗体固相化プレートにミオグロビンを反応させその上に各抗体を反応させる系により検出

内容：0.15M NaClを含む10mM PB pH7.4(0.1%NaN₃)にて10mg/mlに調整してあります。

精製法：DEAEイオン交換、塩析(又はプロテインA)

精製純度：セルロースアセテート膜電気泳動にてIgG以外の蛋白を認めない

保存法：本製品は、4℃~8℃にて保存して下さい。

株式会社日本バイオテスト研究所
東京都国分寺市東戸倉1丁目15-3
TEL 0423 21-0921
FAX 0423 23-7025

1) 1ステップELISA法による反応性の検討

各KO-モノクローナル抗体(MoAb)固相化マイクロプレートに、Biotin化各KO-MoAbとヒトミオグロビン希釈液を同時に加え1ステップELISA法による反応性を検討した。

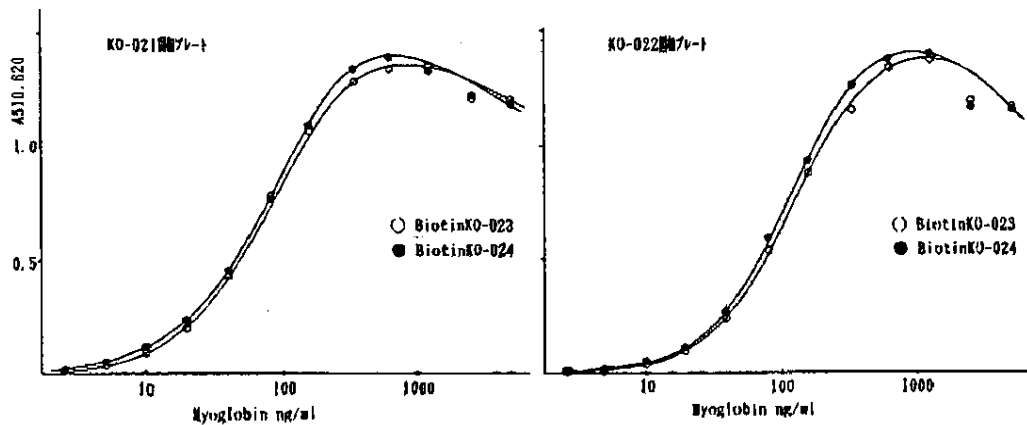
	Biotin化						
	KO-001	002	021	022	026	023	024
固相化KO-001	\	-	-	-	-	○	○
002	-	\	-	-	-	△	△
021	-	-	\	-	-	◎	◎
022	-	-	-	\	-	◎	◎
026	-	-	-	-	\	○	○
023	○	○	○	○	○	\	-
024	○	○	◎	◎	○	-	\

- ◎ : 反応系にて測定値 1.0 以上を示す
- : 1.0 ~ 0.5
- △ : 0.05 ~ 0.5

7種のKO-MoAbについてそれぞれの反応性を検討したところ表に示すように2つのグループに分類された。

2) ヒトミオグロビンの測定系への応用

KO-021, 022 固相化プレートとBiotin化KO-023, 024 を用い1ステップELISA法によりミオグロビンの測定検量線を作成した。



反応液は10倍希釈のプロセス(大田薬)を用い、ALP-Avidin をALP-ローゼ(シグマ)にて発色させ、イムノリーダーにて測定した。

図に示すように、各組み合わせにて良好な希釈曲線がえられヒトミオグロビンの微量定量が可能と思われる。

Western Blottingによる抗ヒトミオグロビン抗体の活性チェック

順天堂大学医学部免疫
加藤和則

【目的】

ELISAで活性の認められた12種類の抗ヒトミオグロビンモノクローナル抗体の活性をWestern Blotting法にて確かめる。

【方法】

以下の方法で行った。

ヒト心臓ミオグロビンをSDS-PAGE (電気泳動) にかける。

3 μ g/lane, non-reducing condition, 15-25% gradient gel, 40mA

↓
ニトロセルロース膜にTransferする。

12V, over night

↓
スキムミルクでBlocking。

2h, room temperature

↓
各種抗ヒトミオグロビン抗体を添加。

3 μ g/ml, 1h, r.t.

↓
0.5%BSA-0.05%Tween20-PBSで洗う。(x5)

↓
Horse Radish Peroxidase(HRP) 標識抗マウスIgGを添加。

x500, 30min, r.t.

↓
0.5%BSA-0.05%Tween20-PBSで洗う。(x5)

↓
DAB溶液(DAB10mg, H₂O25 μ l, PBS 25ml)で発色。

【結果】

次ページに示すように約18KDaのバンドと約45KDaのバンドが認められ、Positive Controlである13(MG1)と同様の活性を有していると考えられる。