決定版！

クローニング コンパクトガイド

（2021年8月改訂版）

PCR

核酸調製
核酸精製

発現系の選択

クローニング

形質転換・
インサートチェック

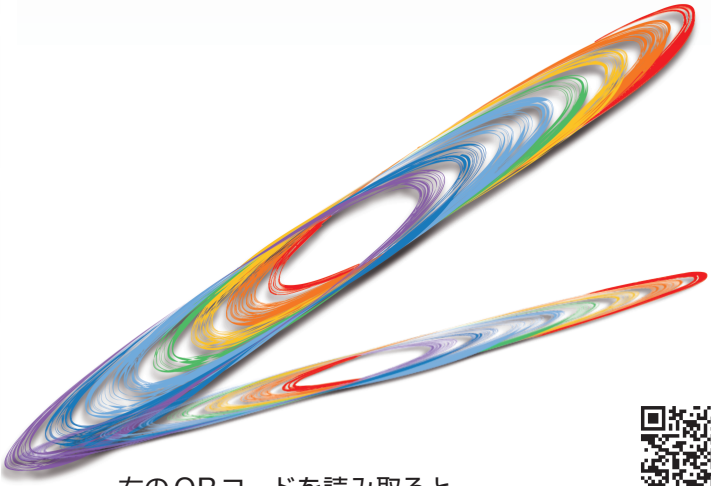
プラスミド精製

タンパク質精製

**PCRからタンパク質精製まで、
タカラバイオは皆様のクローニングを
トータルにサポートします。**

クローニングに役立つ製品情報が満載です。
あなたのそばにいつもこの1冊を！

that's GOOD science!



右のQRコードを読み取ると、
お得情報や製品情報をご覧いただけます。

Clontech TaKaRa cellartis

PCR

PCR

p.3-4

クローニングでの使用を特におススメしたい2シリーズのPCR酵素「PrimeSTAR」と「Tks Gflex」をご紹介
【PrimeSTARシリーズ】・・高い正確性、長鎖やGCリッチな鋳型の増幅、高速PCRで反応時間を短縮
【Tks Gflexシリーズ】・・・増幅が難しい配列も良好に増やすことができ、正確性も水準以上
・関連製品：逆転写酵素PrimeScriptシリーズ

核酸調製・精製

核酸調製・核酸精製

p.5-6

PCRのための鋳型サンプルの調製や、PCR後の増幅断片の精製におススメする「スピンカラムタイプ」の精製キットを中心にご紹介
・細胞、組織、生体液、細菌、酵母、植物、食品、飼料、法医学的サンプルなどからのゲノムDNA抽出
・PCR産物のクリーンアップや目的断片のゲル抽出

発現系の選択

発現系の選択

p.7-10

大腸菌コールドショック発現系、ブレビバチルス発現系、ヒト細胞発現系、無細胞合成系、昆虫細胞発現系、植物発現系など、原理の異なるユニークなタンパク質発現系を取り揃えています。
効率よく高収量で目的タンパク質を得るために、最適な発現系をお選びください。

クローニング

クローニング

p.11-14

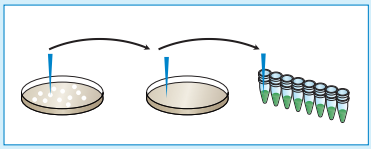
目的のDNA断片を任意のベクターに載せるクローニング操作は、様々な場面で利用される遺伝子工学実験の基礎技術の一つです。ここではスタンダードな手法から画期的なIn-Fusion法までをご紹介します。
・制限酵素／ライゲーションキット（スタンダードな方法）
・TAクローニング（制限酵素なしで構築可能）
・In-Fusionクローニング（複数断片を任意のサイトに、制限酵素処理なしで構築可能）

形質転換・インサートチェック

形質転換・インサートチェック

p.15

効率的なクローニングにはコンピテントセル選びも重要なファクターです。ワンランク上の「HST08」をお試しください。
インサートチェックが簡単・迅速に行えるプレミックスタイプのPCR酵素も併せてご利用ください。



プラスミド精製

プラスミド精製

p.16

目的に応じて、多彩なラインナップから製品を選択してください。
・ミニプレップ（クローニング、トランスフォーメーション、シーケンスなど）に使用したい。
・トランスフェクションに使いたい。
・Endotoxin freeでトランスフェクションに使いたい。
・BAC、PAC、P1、cosmidの調製に使いたい。

タンパク質精製

タンパク質精製

p.17-22

Hisタグ融合タンパク質の精製用に、樹脂タイプの「TALONシリーズ」と、
最新膜テクノロジーを使用して室温での短時間精製を可能にした
「Capturemシリーズ」をラインナップしています。
「Capturemシリーズ」には、Protein Aによる抗体精製用もご用意しています。

【巻末特集】大人気！ In-Fusionクローニングの実績 p.25-26

クローニング／タンパク質発現・精製時間の短縮を実現する Time Saving 製品のご紹介

現在お使いの製品と置き換えていただくだけで実験にかかる時間を短縮できる製品、それが「Time Saving 製品」です。少しでも早く結果を知りたい、成果を出したい方はぜひ一度お試しください。

高速PCR酵素が反応時間を短縮します

★詳細はp.3で

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
PrimeSTAR® GXL Premix Fast, Dye plus	200回	R052A	¥35,000
	800回	R052B (A×4)	¥110,000

特　長

・PCR酵素の中でも**トップクラスの伸長速度(5秒／kb～)**を実現
・**PrimeSTAR® GXL**の**正確性**と**高反応性**に加え、Dye入りプレミックスで**利便性**もアップ

長く、正確に増やすことが要求されるクローニング用ベクターの増幅に最適です。
しかもトータルのPCR反応時間を大幅に減らせます！

クローニングにかかる時間を約1日短縮できます

★詳細はp.13-14で

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
In-Fusion® Snap Assembly Master Mix	10回	638947	¥23,000

特　長

・PCRクローニングを行えば、制限酵素処理やライゲーションによる切り貼りが一切不要
・In-Fusion反応時間はわずか**15分**

制限酵素＆ライゲーションキットを使ったクローニングより、反応にかかる時間を約1日も短縮することができます。
成功率も高いので、失敗した場合のやり直し時間も減らせます。

わずか5分でHisタグ融合タンパク質や抗体の精製が可能なスピンカラム

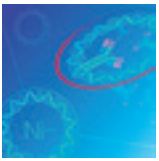
★詳細はp.20-21で

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit	20回	635710	¥34,000
Capturem™ Protein A Miniprep Columns	12回	635717	¥34,000

特　長

・革新的な膜テクノロジーにより、サンプルの添加から溶出までがわずか**5分**
・ベッドボリュームが小さく、高純度、高収量、高濃度の溶出が可能

タンパク質精製にかかる時間と手間を大幅に削減できます。
収量の多いMaxiタイプもご用意。

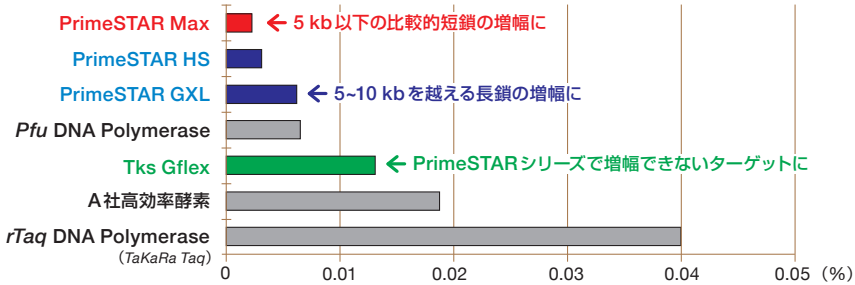


PCR

1 何といってもクローニングには正確性が重要！ 高正確性酵素 PrimeSTAR®シリーズ

「PrimeSTAR」は非常に強力な3'→5' exonuclease活性を有し、タカラバイオのPCR酵素の中で随一の正確性を誇ります。さらに高い反応性を併せもち、まさにクローニングに最適なPCR酵素です。
最も正確性が高く、高速PCR反応が可能な「**PrimeSTAR Max**」、長鎖やGCリッチサンプルにも対応可能な「**PrimeSTAR GXL**」、バランスのとれたベーシックタイプの「**PrimeSTAR HS**」、PrimeSTAR GXLをベースに高速性能と利便性を向上させた「**PrimeSTAR GXL Premix Fast, Dye plus**」など、目的に合わせてお選びいただけます。
クローニング用PCR酵素のファーストチョイスは「PrimeSTAR」で決まりです！

◆ 圧倒的に低いエラー率！ PrimeSTARシリーズと各種PCR酵素との正確性の比較



エラー率の算出方法と結果：GCリッチで変異が入りやすい*Tth*ゲノムDNAを鋳型にPCR・クローニングし、複数クローンをシーケンス確認(約15～50万塩基)。結果よりエラー率(Mutant frequency)を求めた。
High Fidelity PCR酵素の原点である *Pfu* DNA Polymeraseの正確性を上回ります！

◆ PrimeSTARシリーズなどタカラバイオ高性能PCR酵素の特長

製品名	Fidelity	Speed	GC-/AT-rich	増幅効率	増幅サイズ(ヒトゲノム)	Product end	Dye
PrimeSTAR Max	★★★★★	★★★★★	★★★	★★	≦ 6 kb	Blunt	
PrimeSTAR GXL Premix Fast, Dye plus	★★★★	★★★★★	★★★★	★★	≦ 30 kb	Blunt	○
PrimeSTAR GXL	★★★★	★★★★☆	★★★★	★★	≦ 30 kb	Blunt	
PrimeSTAR HS	★★★★☆	★★	★★★	★★	≦ 8.5 kb	Blunt	
Tks Gflex	★★★	★★★☆	★★★★★	★★★	≦ 30 kb	Blunt	

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	100回 (50 µl反応系)	R045A	¥31,500
	400回 (50 µl反応系)	R045B (A×4)	¥101,000
PrimeSTAR® GXL Premix Fast, Dye plus	200回	R052A	¥35,000
	800回	R052B (A×4)	¥110,000
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	250 U	R050A	¥37,000
	1,000 U	R050B (A×4)	¥110,000
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	250 U	R010A	¥31,500
	1,000 U	R010B (A×4)	¥101,000

おすすめ！関連製品

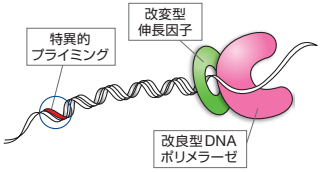
正確性が非常に高いPrimeSTARシリーズとIn-Fusion Snap Assembly Master Mixを組み合わせて用いることで、極めて効率よくクローニングができます。特に高速PCRが可能なPrimeSTAR MaxやPrimeSTAR GXL Premix Fast, Dye plusを用いれば、大幅に反応時間を短縮でき、迅速なクローニングが可能です。
In-Fusion の詳細は 13-14 ページをご覧ください。

2 ハイパフォーマンスのPCR酵素でクローニングもばっちり！ Tks Gflex™ DNA Polymerase

高成功率

難増幅配列

クルード対応



※プライミングとは・・・

DNAポリメラーゼはプライマーの3'末端で酵素／DNA複合体を形成し、鎖伸長を始めます。この複合体形成が「プライミング」です。

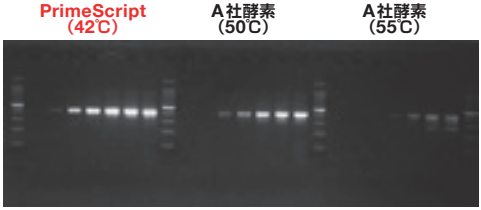
Tks Gflex DNA Polymeraseはクルードサンプル、GCリッチ・ATリッチ・長鎖などの難増幅配列でも特異的な増幅が可能な、高い増幅能を持つPCR酵素です。α型ポリメラーゼをベースに改良を行い、正確性を維持しながらも高い反応効率を実現しているため、クローニング目的にもご利用いただけます。
PrimeSTARでは増えにくいターゲットをクローニングしたい場合にぜひお試しください。

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
Tks Gflex™ DNA Polymerase	250 U（50 μl反応系 200回）	R060A	¥32,000
	1,000 U（50 μl反応系 800回）	R060B（A×4）	¥104,000

〔関連製品〕 逆転写酵素「PrimeScript™シリーズ」

PCRの鋳型調製に欠かせない逆転写酵素選びも、より良いクローニングを行うための重要なファクターの一つです。
PrimeScript RTaseは、酵素自身や反応系の改良により高品質のcDNA合成が可能です。

- 高品質のcDNA合成が可能
- 強いディスプレースメント伸長活性がポイント
- 42℃反応（mRNAの分解を低減）
- 強固な高次構造RNAにも対応可能



強固な高次構造をとる28S ribosomal RNAをターゲットに、PrimeScript RTaseおよびA社逆転写酵素でcDNA合成を行い、同一条件下のPCRにてcDNA合成を比較した。
PrimeScript RTaseが最も優れた感度と増幅効率を示し、cDNAの収量も優れていた。　（弊社比較データ）

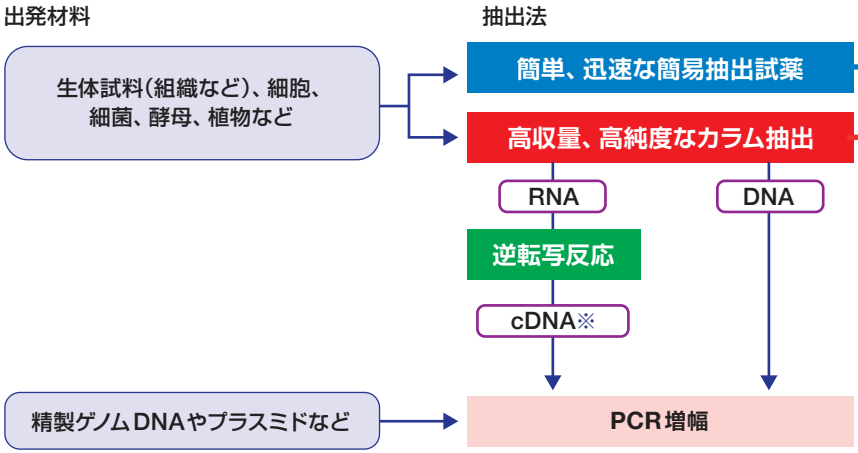
- ターゲット：ヒト28S ribosomal RNA（GC 70.6%、418 bp）
- RTプライマー：Specific Primer
- RT温度：PrimeScript 42℃、A社酵素50℃および55℃
- PCRの鋳型としたcDNA量：レーン左より、total RNA 500 fg、5 pg、50 pg、500 pg、5 ng、50 ng、500 ng 相当量

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
cDNA合成用に酵素単品からキット品まで、幅広いラインナップを用意			
PrimeScript™ Reverse Transcriptase	10,000 U	2680A	¥32,000
PrimeScript™ II Reverse Transcriptase	10,000 U	2690A	¥35,000
PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit	50回	6110A	¥33,000
PrimeScript™ Double Strand cDNA Synthesis Kit	10回	6111A	¥56,000
最高品質のcDNA合成試薬。正確性が高く、長鎖にも対応したPCR酵素を含むRT-PCR Kit			
PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit	50回	R023A	¥52,000
	200回	R023B（A×4）	¥171,000
PrimeScript™ II High Fidelity One Step RT-PCR Kit	50回	R026A	¥52,000
	200回	R026B（A×4）	¥171,000
簡便に高品質のcDNA合成を可能とするプレミックスタイプの試薬、RNA熱変性ステップが不要			
PrimeScript™ IV 1st strand cDNA Synthesis Mix	50回	6215A	¥37,000
	200回	6215B（A×4）	¥113,000

核酸調製・核酸精製

PCRのための鋳型サンプルの調製

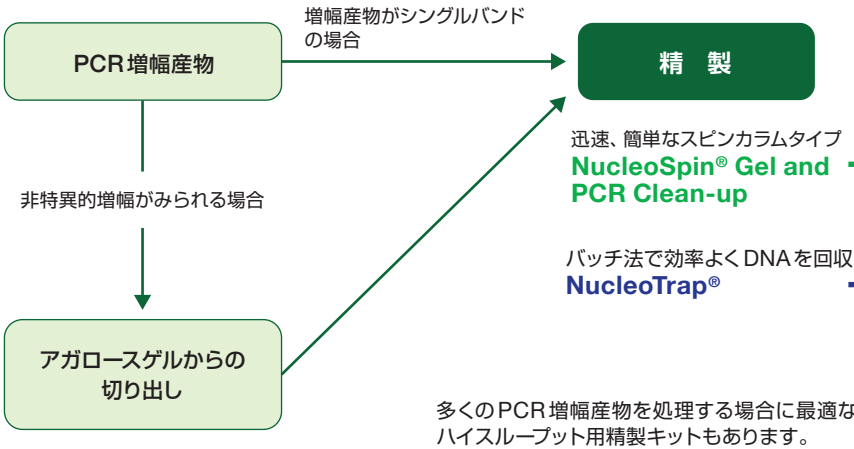
組織、細胞、生体液、細菌、酵母、植物、食品、飼料、法医学的サンプルなどからゲノムDNA、RNAを抽出し、鋳型DNAを調製します。



※ヒト・マウス・ラットの広範な組織や細胞株から作製したQUICK-Clone cDNAをご用意しています。QUICK-Clone cDNAは高品質なPremium Poly A$^+$ RNAを材料にオリゴdTプライマーを用いて合成を行い、残存RNAを除き、さらに400 bp未満のcDNA断片も除去した二本鎖cDNAです。このcDNAを鋳型に遺伝子特異的プライマーを使用することで、目的遺伝子をPCR増幅することができます。詳しくは、弊社ウェブカタログをご覧ください。

PCR後の増幅断片のクリーンアップ

クローニング、制限酵素処理などに利用するため、PCR増幅産物を精製します。



多くのPCR増幅産物を処理する場合に最適な、ハイスループット用精製キットもあります。詳しくは、弊社ウェブカタログをご覧ください。

● 鋳型DNA簡易抽出試薬

◆ 生体試料など広範囲の試料に使用できるDNA簡易抽出試薬

・動物組織(マウス尾)や植物組織、血液、加工食品、土壌、菌体等から、簡便にPCRの鋳型DNAを調製
・添加する試薬は1種類のみ。本試薬をそのまま添加、95℃10分の加熱だけでDNAを簡易抽出
・DNA抽出液(上清)は、そのままPCRのテンプレートに使用可能

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
MightyPrep reagent for DNA	20 ml	9182	¥15,000

● カラム抽出で高収量、高純度調製

◆ 動物組織、細胞、細菌、酵母などから効率よくゲノムDNAを調製

・35 μgまでの高純度ゲノムDNAを調製可能　　・様々な試料に対応した16種類以上のプロトコールを用意

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
NucleoSpin® Tissue	10回	740952.10	¥6,900

◆ 動物組織、細胞、細菌、酵母などからtotal RNAを調製

・RNA精製に必要な試薬をすべて含むall-in-oneの精製キット
・スピンカラムでRNAを簡便に高純度精製
・オンカラム処理用のrDNaseを標準添付

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
NucleoSpin® RNA	10回	740955.10	¥8,000

● スピンカラムで迅速簡便にDNA断片を精製

◆ PCR反応液の精製およびアガロースゲルからの抽出のいずれにも対応可能なスピンカラム

・1種類のバッファーでPCR産物の精製、ゲルからの抽出の両方に対応可能
・操作時間はわずか10分。XSタイプなら最少溶出液量は6 μl
・50 bp以上のDNA断片を回収、プライマーを効率よく除去
・全てのゲル用バッファー(TAE、TBEなど)に対応
・Binding BufferにpH indicatorをプラスし、確実な操作が可能

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up	10回	740609.10	¥5,300
NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up XS	10回	740611.10	¥5,500

● バッチ法により効率よくDNAを回収

◆ シリカレジンによるDNA断片精製キット

・カラムを用いないバッチ法でアガロースゲルから効率よくDNAを回収
・反応液からの酵素、ヌクレオチド、ラベリング反応後のビオチンなどの除去にも利用可能
・非常に短いDNA(≧20 bp)に対しても高い結合能力
・活性化されたシリカマトリックスにより、有機溶剤を使用することなく非常に温和な条件で、アガロースゲルや溶液からDNA断片を抽出・精製可能。長鎖DNA断片も切断や分解を起こしにくい。

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
NucleoTrap®	10回	740584.10	¥4,800
	100回	740584	¥20,000

発現系の選択

〔タンパク質発現系一覧〕

原理や機構の異なる様々なタンパク質発現系を取り揃えています。目的のタンパク質に適した発現系をお選びください。

▶大腸菌コールドショック発現系 p.8
可溶性発現、高効率、高純度 おススメ

▶ヒト細胞発現系 p.9
従来法と比べ最大約10倍の高発現（HEK293細胞）

▶ブレビバチルス発現系 p.7
分泌発現、大量発現、活性型タンパク質を発現

▶無細胞合成系（ヒト細胞株由来） p.9
1チューブ&1ステップ反応、高分子合成

▶昆虫細胞発現系 p.10
大量発現、翻訳後プロセッシング

▶植物発現系 p.10
双子葉植物用・単子葉植物用を用意、高発現

1 ブレビバチルス発現システム 【*Brevibacillus* Expression System】

- **活性型のタンパク質を分泌生産**
  各種生物由来の酵素やサイトカイン類を効率よく生産でき、これらが活性を示すことも確認されています。
- **プロテアーゼによる分解を防止**
  宿主株はプロテアーゼ遺伝子をノックアウトしてあるため、目的タンパク質はほとんど分解を受けずに培養上清中に分泌生産されます。
- **培養・取扱いが容易**
  宿主株は一般的な培養基材で簡単に培養できます。胞子形成遺伝子を破壊しているので、使用後の殺菌も容易です。

製品名	概要	His タグ	タグ切断	容量	製品コード	価格（税別）	備考
***Brevibacillus* Expression System II**	分泌発現系：pNY326ベクター、pNCMO2ベクター、コンピテントセルのセット	–	–	1 Kit	HB200	¥100,000	ラ
pNCMO2 DNA	ブレビバチルスと大腸菌のシャトルベクター	–	–	10 µg	HB112	¥35,000	
pNC-HisT DNA	ブレビバチルスと大腸菌のシャトルベクター。Hisタグ融合タンパク質を分泌発現可能	●	TB	10 µg	HB121	¥35,000	
pNC-HisF DNA		●	FXa	10 µg	HB122	¥35,000	
pNC-HisE DNA		●	EK	10 µg	HB123	¥35,000	
***Brevibacillus* Competent Cells**	*B. choshinensis* SP3株のコンピテントセル			100 µl ×10	HB116	¥30,000	
pNI DNA	ブレビバチルス菌体内発現ベクター	–	–	10 µg	HB131	¥35,000	
pNI-His DNA		●	EK	10 µg	HB132	¥35,000	
BIC System	BIC法（*Bevibacillus In vivo* Cloning法）を採用した高効率分泌発現システム。4種類のベクター（pBIC DNA Set）、コントロールインサート、コンピテントセルのセット	●	EK	1 Kit	HB300	¥100,000	
pBIC DNA Set	分泌シグナルの異なる4種類のベクターのセット。分泌シグナルを最適化でき、発現成功率の向上・生産量の増大を実現。	●	EK	1 Set	HB310	¥80,000	

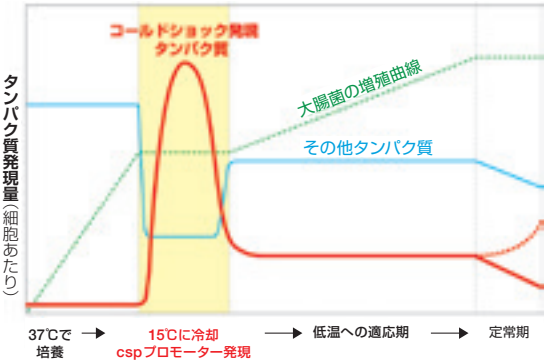
ラ ご購入に際してライセンス確認書が必要となります。　TB: Thrombin、FXa: Factor Xa、EK: Enterokinase

※ブレビバチルス発現システム関連製品はヒゲタ醤油株式会社の製品です。

2 大腸菌コールドショック発現システム 【pColdTM ベクターシリーズ】

コールドショック発現系とは・・・
37℃で培養している大腸菌の培養温度を低温にシフトさせると、生育は一時停止し、大部分のタンパク質の発現は減少しますが、コールドショックタンパク質(CSPs)は特異的に増加します。このメカニズムに注目し、タカラバイオとラトガースニュージャージー州立大学井上正順教授によって共同で開発されたのがコールドショック発現ベクター pColdシリーズです。従来の大腸菌発現系と比較して目的のタンパク質を効率良く高純度で得ることができます。

大腸菌のコールドショック応答



- 培養液を15℃に冷却するだけで効率よく発現を誘導
- 従来の大腸菌発現系に比べ、生産効率と可溶性発現が向上
- 幅広い大腸菌ホストで使用可能
- 可溶化タグの種類やHisタグの有無を目的に合わせて選択可能

コールドショック発現の標準プロトコール

pColdベクターのマルチクローニングサイトに目的遺伝子を挿入して発現用プラスミドを作製する。
↓
発現用プラスミドで宿主大腸菌を形質転換し、アンピシリンを含む選択培地プレート上で形質転換体を選択する。
↓
50～100 μg/mlのアンピシリンを含むLB培地に、形質転換体を植菌して37℃で振とう培養する。
↓
培養液のOD_{600}が0.4～0.5となった時点で培養液をすみやかに15℃に冷却し、30分間放置する。
↓
終濃度0.1～1.0 mMとなるようにIPTGを添加し、15℃で24時間振とう培養する。
↓
集菌

注：最適な培養・誘導条件(培地、培養温度、通気撹拌条件、誘導のタイミング、誘導物質の濃度、誘導後の培養時間)は目的タンパク質によって異なりますので、必要に応じ条件検討を行ってください。

製品名	可溶化タグ	Hisタグ	タグ切断	翻訳促進配列(TEE)	容量	製品コード	価格(税別)
pColdTM GST DNA	GST	●	Factor Xa(※1)、HRV 3C Protease(※2)	●	25 μg	3372	¥100,000
pColdTM ProS2 DNA	ProS2 (Protein S)	●	HRV 3C Protease(※2)、Thrombin(※2)、Factor Xa(※2)	●	25 μg	3371	¥100,000
pColdTM TF DNA	TF (Trigger Factor)	●	HRV 3C Protease(※2)、Thrombin(※2)、Factor Xa(※2)	●	25 μg	3365	¥105,000
pColdTM I DNA	–	●	Factor Xa(※1)	●	25 μg	3361	¥53,000
pColdTM II DNA	–	●	–	●	25 μg	3362	¥53,000
pColdTM III DNA	–	–	–	●	25 μg	3363	¥53,000
pColdTM IV DNA	–	–	–	–	25 μg	3364	¥53,000
pColdTM Vector Set					※3	3360	¥110,000

※1：Hisタグ配列を除去　※2：Hisタグおよび可溶化タグ配列を除去　※3：pCold I～IV 各5 μg

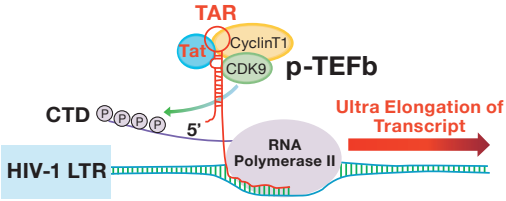
おすすめ！関連製品
・TaKaRa Competent Cells BL21(製品コード 9126)　・・・発現用宿主におススメ
・Single Protein Production System (SPP System)(製品コード 3366～3370)
・・・同位体標識に便利。目的タンパク質が、最大で新生タンパク質の90%以上に達するため、効率的なラベリングが可能

発現系の選択

3 ヒト細胞(HEK293系細胞)発現ベクター 【pHEK293 Ultra Expression Vector】

- HEK293系細胞での一過性高発現用ベクター
- 従来のCMVプロモーターを用いた遺伝子発現と比較して、最大10倍量のタンパク質生産が可能
- 選べる2種類の製品ラインナップ
  - ・簡便な高発現には、1ベクタータイプ(I)がお勧め
  - ・より高発現を望むなら、プラスミドの混合比率を最適化できる2ベクタータイプ(II)がお勧め
- 特に抗体医薬やバイオ医薬品の開発段階などのスクリーニング工程への応用に最適!

高発現の原理



エイズウイルスゲノム由来のRNA配列「**TAR**」と、転写活性化因子である「**Tat**」による高発現システム(**TAR-Tat発現システム**)を利用しています。TAR-Tat発現システムによるHIV-LTRからの転写活性化は、TatがウイルスRNAの5'末端に形成されるTARと呼ばれるループ構造に結合して、RNA Polymerase IIをリン酸化することで行われます。本製品はこの原理を利用して、目的タンパク質発現用ベクターとTat発現用ベクターの5'側非翻訳領域にTARをコードする配列を付加しています。これにより、Tatタンパク質の効率的な発現が可能となり、目的タンパク質の発現量を大幅に向上させることができます。

	製品名	製品内容	容量	製品コード	価格(税別)
簡便に高発現が可能な1ベクタータイプ	**pHEK293 Ultra Expression Vector I**	・pHEK293 Ultra Expression Vector I	20 µg	3390	¥105,000
最適化して高発現可能な2ベクタータイプ	**pHEK293 Ultra Expression Vector II**	・pHEK293 Ultra Expression Vector II ・pHEK293 Enhancer Vector	各20 µg	3392	¥105,000

4 無細胞タンパク質合成システム 【Human Cell-Free Protein Expression System】

- ヒト細胞株由来の細胞抽出液を利用した無細胞タンパク質合成システム
- IRES配列の利用、翻訳増強因子の効果により合成レベルが向上
- 簡便なシングルチューブ反応を採用
- 150 kDaを超える高分子量タンパク質の合成にも応用可能

製品名	概要	精製タグ	タグ切断	容量	製品コード	価格(税別)
Human Cell-Free Protein Expression System	pT7-IRES ベクター、T7 RNA Polymerase、Cell Lysate、Mixture1,2,3を含む試薬キット	–	–	10回	3281	¥38,000
pT7-IRES His-N DNA	目的タンパク質にタグを融合発現するベクター	His	Factor Xa	20 µg	3290	¥36,000
pT7-IRES His-C DNA		His		20 µg	3291	¥36,000
pT7-IRES Myc-N DNA		Myc		20 µg	3292	¥36,000

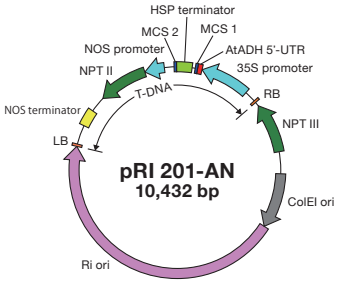
5 昆虫細胞発現システム 【BacPAK バキュロウイルス発現システム】

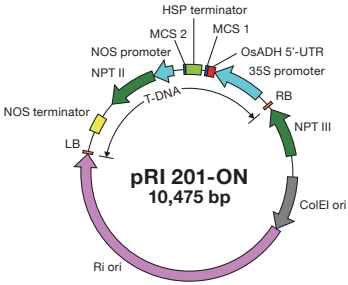
- 高収量(培地中のタンパク質濃度；1～500 mg/L)
- 翻訳後修飾やプロセシングが起こることで、天然型に近いタンパク質を取得可能
- 哺乳動物細胞に近い糖鎖修飾(*N*-グリコシレーション)
- 夾雑タンパク質やタンパク質分解酵素が比較的少なく、精製が容易

製　品　名	概　要	容　量	製品コード	価格(税別)
BacPAK™ Baculovirus Expression System	バキュロウイルス発現システム	1 Set	631402	¥144,000
BacPAK™ Baculovirus Rapid Titer Kit	免疫学的測定法により、バキュロウイルス力価を48時間で測定	5回	631406	¥98,000
BacPAK™ qPCR Titration Kit	qPCR法により、バキュロウイルス力価(ゲノムDNAコピー数)を約4時間で測定	200回	631414	¥86,000

6 植物形質転換用高発現ベクター(改良版) 【pRI 201 DNAシリーズ】

- Riプラスミド由来の変異型複製起点(Ri ori)を持つバイナリーベクター
- 高コピー型の大腸菌oriを持ち、大腸菌での複製も容易
- 定評のあるカリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の35Sプロモーターを搭載
- ADH(Alcohol Dehydrogenase)遺伝子由来の5'非翻訳領域(5'-UTR)(翻訳エンハンサー領域)の採用で、植物体で目的遺伝子産物の高発現を実現
- HSP(Heat Shock Protein)遺伝子由来terminatorの搭載で、より高発現が可能





◆使用文献◆

pRI 201-ANと*Agrobacterium tumefaciens* GV3101 MP90を組み合わせて*Nicotiana benthamiana*葉でのタンパク質発現に使用

Kimura S, *et al*., The CBL-interacting protein kinase CIPK26 is a novel interactor of Arabidopsis NADPH oxidase AtRbohF that negatively modulates its ROS-producing activity in a heterologous expression system. *J Biochem*, (2013) **153**: 191-195.

pRI 201-ANと*Agrobacterium tumefaciens* GV3101を組み合わせてシロイヌナズナの形質転換に使用

Negishi T, *et al*., Tonoplast- and Plasma Membrane-Localized Aquaporin-Family Transporters in Blue Hydrangea Sepals of Aluminum Hyperaccumulating Plant. *PLoS One*, (2012) 7(8): e43189.

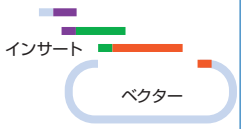
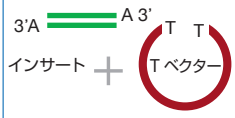
製　品　名	概　要	容　量	製品コード	価格(税別)
pRI 201-AN DNA	ANは双子葉植物用、ONは単子葉植物用 HSP terminatorにより、従来品のpRI 101シリーズに比べて植物体での目的遺伝子産物の高発現が可能	10 μg	3264	¥55,000
pRI 201-ON DNA		10 μg	3265	¥55,000
pRI 201-AN-GUS DNA	形質転換時のポジティブコントロールとして汎用されるGUS(β-glucuronidase)遺伝子をpRI 201-ANまたはpRI 201-ON に組み込んだベクター	10 μg	3266	¥55,000
pRI 201-ON-GUS DNA		10 μg	3267	¥55,000

おすすめ！関連製品

植物形質転換のためのアグロバクテリウムコンピテントセル
Agrobacterium tumefaciens LBA4404 Electro-Cells(製品コード 9115)

クローニング

まず、最適なクローニング方法を選びましょう！

	In-Fusion クローニング	TA クローニング	制限酵素／ライゲーション
			
成功率の高いクローニングがしたい	◎		
複数断片を一度にクローニングしたい	◎		
ディレクショナルクローニングがしたい	◎		◎
制限酵素サイトがない、もしくは合わない	◎		
好きなベクターの好きな位置に入れたい	◎		
制限酵素を使わずにクローニングしたい	◎	◎	
クローニングにかかる時間を短縮したい	◎		
長鎖のインサートを挿入したい			◎
とにかくコスト重視でクローニングがしたい		◎	◎

つづいて選んだ方法の詳細をチェック！

★ In-Fusionクローニングが気になる ➡ ページをめくって13〜14ページへGo！
★ 制限酵素／ライゲーション、TAクローニングを行いたい ➡

実験目的		おススメ製品	
制限酵素／ライゲーション			
迅速・高効率なライゲーション	→	DNA Ligation Kit <Mighty Mix>	A
平滑末端のライゲーション	→	Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End)	B
長鎖(>10 kb)をライゲーション	→	TaKaRa DNA Ligation Kit LONG	C
TAクローニング			
インサートの3'末端はdAが付加している	→	Mighty TA-cloning Kit	D
インサートが平滑末端のためdA付加が必要	→	Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR®	E

制限酵素

タカラバイオウェブサイトの制限酵素認識配列検索ツール
★Takara Cut-Site Navigator
で、DNA配列を読み込んで条件を設定すると、切断サイトを一覧や模式図、配列の詳細で表示できます。

ライゲーション

目的のDNA断片を目的のベクタープラスミドに載せるクローニング操作は遺伝子工学実験の基本です。

A DNA Ligation Kit <Mighty Mix>

操作が簡単な1液タイプ　凍結融解にも強い試薬　5分間ライゲーションもOK

平滑末端、TAクローニングにも最適

B Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End)

短時間で簡便にクローニング

PCR産物は、酵素の不活化、未反応のdNTPやプライマーの除去などの前処理の必要なし

C TaKaRa DNA Ligation Kit LONG

10 kb以上の長鎖の断片を用いてライゲーションを行う場合に最適

BACライブラリーなど長鎖DNAライブラリーの作製も可能

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
DNA Ligation Kit <Mighty Mix>	1 Kit	6023	¥27,000
Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End)	20回	6027	¥30,000
TaKaRa DNA Ligation Kit LONG	1 Kit	6024	¥27,000

TAクローニング

Taq DNAポリメラーゼなどをベースとするポリメラーゼ酵素を用いて得られた増幅産物のほとんどは、その3'末端にデオキシアデノシン(dA)が一塩基付加されています。
TAクローニングでは、3'末端にデオキシチミジン(dT)を一塩基付加したTベクターを使用し、PCR増幅産物のdA一塩基突出部分と相補的となることを利用して簡便にクローニングを行います。(インサートDNAの5'末端のリン酸化は不要です。)

D Mighty TA-cloning Kit

短時間で簡便にクローニング

E Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR®

PrimeSTARシリーズなどのα型DNAポリメラーゼにより増幅されたPCR産物のほとんどは、酵素自身がもつ強力な3'→5'exonuclease活性により平滑末端となっており、そのままではTAクローニングに使用できません。PrimeSTARシリーズによる増幅産物をTAクローニングに用いる場合には、3'末端にdAを付加する必要があります。
本製品には、PrimeSTARシリーズによる増幅産物の3'末端に、簡便にdAを付加するためのA-overhang mixture、およびMighty TA-cloning Kitが含まれており、PrimeSTARシリーズによる増幅産物専用のTAクローニング用試薬として使用することができます。
★PrimeSTARシリーズの基本的な特長は3ページをご覧ください。

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
Mighty TA-cloning Kit	20回	6028	¥22,000
Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR®	20回	6019	¥33,000

クローニング

In-Fusionクローニング

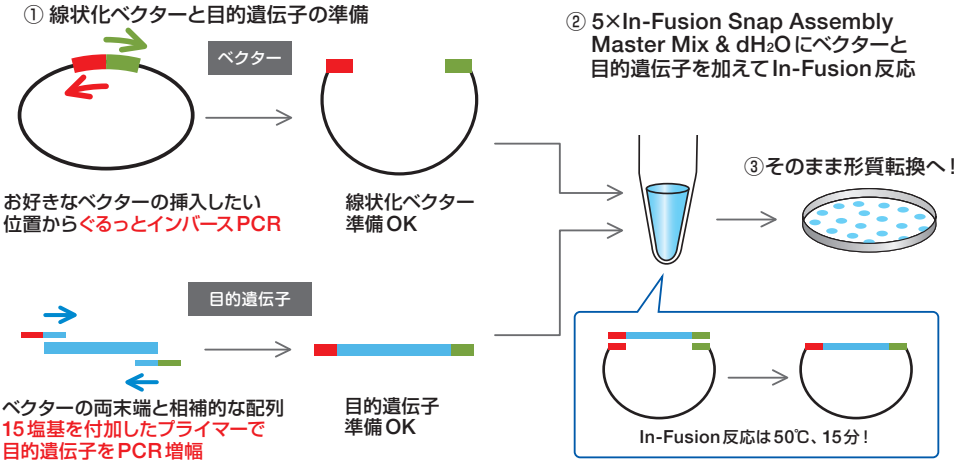
DNA断片同士の末端15塩基の相同配列を融合させることでクローニングを行います。
使用する任意のベクターの末端配列を利用してクローニングを行うため、あらゆるベクターが使用でき、余分な配列が一切付加されず、しかも定方向クローニングを行うことができる優れた手法です。
PCRクローニングを行えば、制限酵素も不要です。

- ✓ どんなベクターのどんな位置にもディレクショナルクローニングが可能
- ✓ 短鎖から長鎖(50 bp～15 kb)まで効率よくクローニングが可能
- ✓ 一挙に複数DNA断片を挿入するマルチクローニングが可能
- ✓ In-Fusion反応はわずか15分で完了

In-Fusionクローニングの概要

ポイント：
ベクター上の挿入したい位置の両側15塩基と相同な配列が、目的遺伝子の各末端にあればよい。

PCRでベクター＆目的遺伝子の調製を行えば、In-Fusion反応にそのまま使える線状化ベクターと目的遺伝子が簡単に準備できます！



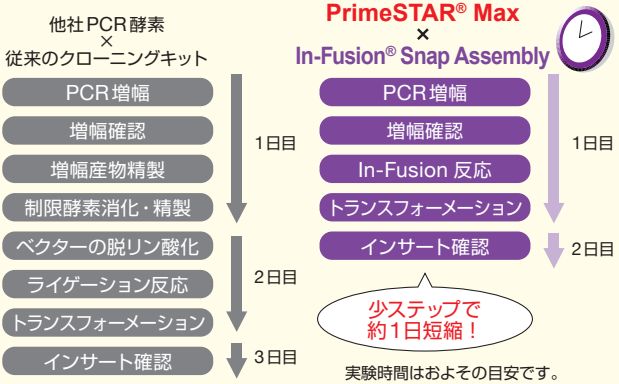
！ PCRを使用したIn-Fusionクローニングを行えば、制限酵素やライゲーションキットによる切り貼りが一切必要ありません。だからIn-Fusionクローニングは簡単・便利なのです！

耳寄り情報

In-Fusion反応のプライマー設計は、無料オンライン設計ツールを使うと簡単です。
https://www.takarabio.com/learning-centers/cloning/primer-design-and-other-toolsにアクセスしてください。

In-Fusion®については巻末特集(25、26ページ)でもご紹介しています。

◆ PCRに基づくIn-Fusionクローニングで実験にかかる時間を約1日短縮



5秒／kbの伸長能をもつPrimeSTAR Maxは、5 kbのPCR増幅が約60分(※1)で完了します。目的DNA断片の増幅はもちろん、PCR増幅によるベクターの線状化にもおススメです。
また、In-Fusionによるディレクショナルクローニングでは、目的DNA断片の制限酵素処理が不要なため、PCR増幅した目的DNA断片とベクターを混合し、In-Fuson反応(15分)を行うだけでベクターへの挿入が完了し、大腸菌へのトランスフォーメーションに進めます(※2)。

※1：鋳型によっては1分／kbの伸長反応が必要です。
※2：ベクターの線状化は制限酵素処理でも可能です。脱リン酸化は不要です。

【 In-Fusion製品リスト 】

製　品　名	概　要	容量	製品コード	価格(税別)
In-Fusion® Snap Assembly Master Mix	In-Fusion HDのバージョンアップ品。HD、他社キットと比べてクローニング効率が向上	10回	638947	¥23,000
		50回	638948	¥113,000
		250回	638949	¥380,000
In-Fusion® Snap Assembly EcoDry™ Master Mix	凍結乾燥タイプで室温保存OK。分注済みで直ちに使用可能	8回	638954	¥24,000
		32回	638955	¥72,000
		96回	638956	¥198,000

【 In-Fusion関連製品リスト 】 In-Fusionと組み合わせて使用すれば、クローニングの成功率や効率がさらにアップ！

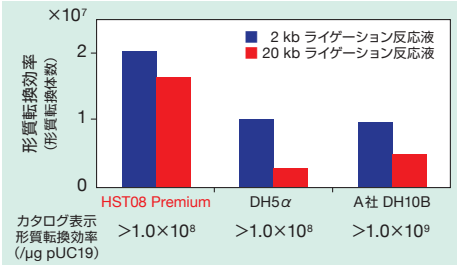
製　品　名	概　要	容量	製品コード	価格(税別)
Cloning Enhancer	PCR産物がシングルバンドの場合、本製品で前処理すればカラム精製不要	50 µl	639613	¥23,000
		100 µl	639614	¥36,000
		200 µl	639615	¥63,000
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	世界最速の伸長速度と正確性、確実性を兼ね備えた最高水準のPCR酵素	100回	R045A	¥31,500
***E. coli* HST08 Premium Competent Cells**	非常に高い形質転換能力を持つコンピテントセル	1 Set	9128	¥23,100
NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up	PCR産物やアガロースゲルからのDNA断片を簡単な操作で精製可能	10回	740609.10	¥5,300
		50回	740609.50	¥13,500
NucleoBond® Xtra Midi Plus	超高純度のプラスミドDNAを高収量で精製可能。操作時間も短い	10回	740412.10	¥16,800
NucleoBond® Xtra Maxi Plus		10回	740416.10	¥37,000

形質転換

高い形質転換効率！ *E. coli* HST08 Premium Competent Cells

コンピテントセル選びもクローニングの重要なファクターの一つです。ルーチンクローニングから様々な長さの遺伝子を含むcDNAライブラリー作製やIn-Fusion反応まで、クローニング成功率UPのために「HST08」をおススメします。

- ルーチンクローニングにも、長鎖DNA（10 kb以上）のクローニングにも最適！
- メチル化DNAのクローニングが可能
- cDNAライブラリーやゲノムライブラリーの作製にもおススメ



●ライゲーション反応液を用いた形質転換効率の比較

2 kb、20 kbのDNA断片とpUC118 *Hind* III/BAP（製品コード 3324）のライゲーションを、それぞれDNA Ligation Kit <Mighty Mix>またはTaKaRa DNA Ligation Kit LONGを用いて実施した。上記のライゲーション反応液で各コンピテントセルを形質転換し、アンピシリンを含むLB（+X-Gal）寒天培地にプレーティング後、得られた白色コロニーの数から形質転換効率を比較した。
2 kb、20 kbのどちらの場合も、HST08で最も高い形質転換効率が得られ、特に20 kb断片のクローニングでは、顕著な差が見られた。（弊社比較データ）

HST08は、In-Fusionでのマルチクローニングや、効率の下がる長鎖インサートのクローニングにも最適！

製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
***E. coli* HST08 Premium Competent Cells**	1 Set（100 μl×10）	9128	¥23,100
***E. coli* JM109 Competent Cells**	1 Set（100 μl×10）	9052	¥21,000
***E. coli* DH5α Competent Cells**	1 Set（100 μl×10）	9057	¥21,000

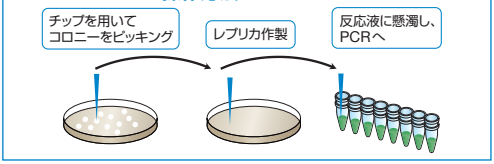
インサートチェック

究極の価格と反応性を実現！ EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix

1反応あたり
わずか44円

- 反応後そのまま制限酵素で処理可能
- TAクローニングに使用可能
- 4℃でも3ヵ月間安定

コロニーPCRの操作方法



製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix	160回（50 μl反応系）	RR320A	¥7,000

高速PCRが可能で反応時間を大幅短縮！ SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

SapphireAmp Fastは、高速PCRが可能なホットスタートタイプのDye入りPCR用プレミックス試薬です。通常のDye入りプレミックス試薬に比べてPCR反応時間がおよそ半分に短縮できるので、結果を早く知りたい方に特におススメです。

製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
SapphireAmp® Fast PCR Master Mix	160回（50 μl反応系）	RR350A	¥18,000
	800回（50 μl反応系）	RR350B（A×5）	¥69,000

プラスミド精製

プラスミドミニプレップ

構築されたプラスミドは、そのDNAを精製後、制限酵素消化や塩基配列解析によりその構造を確認する必要があります。この場合には、より簡便迅速にプラスミド精製ができるシリカカラムタイプの精製キットNucleoSpin Plasmid EasyPureをおススメします。

- 最大30 μgの結合容量、14分で6サンプルを処理可能
- pH指示試薬LyseControlにより、大腸菌のアルカリ溶解、中和反応を可視化
- RNase A溶液を添付、溶解なしですぐに抽出作業に使用可能

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
NucleoSpin® Plasmid EasyPure	10回	740727.10	¥4,200

トランスフェクショングレードプラスミド精製

プラスミドを遺伝子導入に使用する場合には、大腸菌の内膜由来のLPS(エンドトキシン)の混入が問題になる可能性があります。このような場合には、陰イオン交換カラムで精製したプラスミドを使用することをおススメします。

NucleoBond® Xtra Midi / Maxiシリーズ

- 陰イオン交換カラムでプラスミドを高純度精製
- 高流速カラムを使用するため作業時間を大幅短縮可能
- Midiで500 μg、Maxiで1 mgのプラスミドの精製が可能

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
NucleoBond® Xtra Midi	10回	740410.10	¥14,500
NucleoBond® Xtra Maxi	10回	740414.10	¥32,000

より簡便にトランスフェクショングレードのプラスミドを精製するため、ミニプレップキットにエンドトキシン除去ステップを組み合わせたNucleoSpin Plasmid Transfection-gradeもご用意しています。多種類のプラスミドを遺伝子導入されるような場合はご検討ください。

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
NucleoSpin® Plasmid Transfection-grade	10回	740490.10	¥4,500

エンドトキシンフリーグレードプラスミド精製

動物個体やエンドトキシンに対して感受性が高い神経細胞へプラスミドを遺伝子導入する場合は、エンドトキシンを極限まで除去するために、陰イオン交換カラムにエンドトキシン除去ステップを追加したNucleoBond Xtra Midi / Maxi EFシリーズをおススメしています。

NucleoBond® Xtra Midi / Maxi EFシリーズ

- NucleoBond Xtra Midi / Maxiシリーズの高収量、高流速カラムにエンドトキシン除去ステップを追加
- エンドトキシンのレベル <0.05 EU/μg DNAを実現

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
NucleoBond® Xtra Midi EF	10回	740420.10	¥21,900
NucleoBond® Xtra Maxi EF	10回	740424.10	¥45,000

タンパク質精製

ここではHisタグ融合タンパク質精製用製品とProtein Aを用いた抗体精製用製品をご紹介します。
Hisタグ融合タンパク質精製には信頼と実績のTALONレジンと迅速・簡単で一押しのCapturemスピンカラムを、抗体精製用にはスピンカラムタイプをご用意しています。目的に合った製品をご用意しています。目的に合った製品をご利用ください。

◆ Hisタグ融合タンパク質精製用

	特長	収量	所要時間	簡便さ
TALON® シリーズ → 17-18 ページ	豊富なラインナップ 高純度、高収量	20 mg protein / ml resin	60〜120 min	★★★
Capturem™ His-Tagged → 20 ページ	短時間で簡単にHisタグ精製が可能	80 µg protein / mini column 1.5 mg protein / maxi column 80 µg protein / well※	5〜15 min	★★★★★

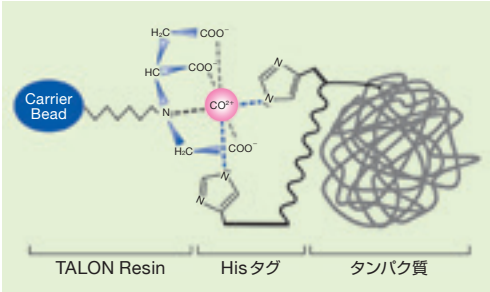
※96 well plateの場合

◆ 抗体精製用

	特長	収量	所要時間	簡便さ
Capturem™ Protein A → 21 ページ	短時間で簡単に抗体精製が可能	40 µg protein / mini column 1 mg protein / maxi column	5〜15 min	★★★★★

TALON® Resin 高純度Hisタグ精製

- **ヒスチジン繰り返し配列に特異性が高い Co^{2+}を使用**
  非特異的吸着が極めて少ない高純度精製が可能です。
- **4配位結合キレート剤で Co^{2+}を強固に固定**
  金属イオンの脱落はありません。
- **多様な精製条件下で使用可能**
  6Mグアニジン変性条件でも収量を維持します。



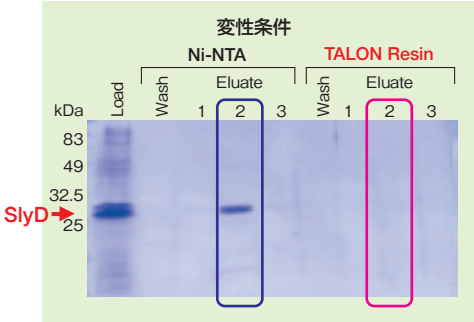
もっと詳しく・・・

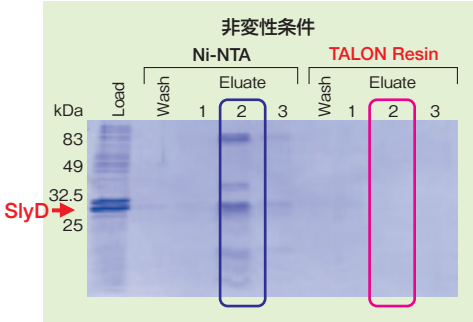
ClontechブランドのTALON Resinはヒスチジンタグ融合タンパク質のIMAC(固定化金属アフィニティークロマトグラフィー)精製用高性能樹脂です。
TALON Resinの反応中心には Co^{2+}が存在し、三次元空間的に適切に配置した隣接ヒスチジンのみがこの反応中心で Co^{2+}に結合するため、ヒスチジンタグに対して高い選択性・親和性を示します。IMACに一般的に用いられている Ni^{2+}ベースの樹脂ではこの空間的な位置要求性があまり厳密ではなく、タグ部分以外のヒスチジンにも結合する場合があります。また、TALON Resinは構造が均一なキレートリガンドを採用しているため、金属イオン(Co^{2+})を常に4つのキレート部位で安定保持することができ、金属イオンの脱落がほとんど起こらず、目的のタグ融合タンパク質の収量低下を招きません。このようにTALON Resinは、ヒスチジンタグ融合タンパク質を高純度かつ安定した収率で精製できる優れた特長をもつIMAC用担体です。

◆ TALON® Resinの優れた吸着特異性

ヒスチジンタグをもたないタンパク質が、Ni^{2+}キレート樹脂に非特異的に吸着するケースはしばしば見られますが、TALON Resinではヒスチジンタグ融合タンパク質以外の吸着はほとんど起こりません。

● BL21(DE3)pLysS株由来SlyDタンパク質(27 kDa)を用いて比較した例
(SlyD：2価の金属イオン結合部位をもつプロリルイソメラーゼ)





Ni-NTA Resinでは、SlyDは非特異的に吸着されてしまい、不要なタンパク質の混入の原因となります。
TALON Resinでは、変性条件、非変性条件にかかわらず非特異的な吸着は見られません。不要なタンパク質が混入しないため、高純度の精製が期待できます。

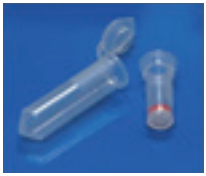
製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)	レジン	カラム	バッファー 抽出	バッファー 洗浄・溶出
● Hisタグ精製用レジン							
TALON® Metal Affinity Resin	10 ml	635501	¥23,000	●			
	25 ml	635502	¥53,000	●			
TALON® 2 ml Disposable Gravity Column	50本	635606	¥16,000		●		
● Hisタグ精製用レジン(加圧可)…高速クロマト対応							
TALON® Superflow Metal Affinity Resin	25 ml	635506	¥66,000	●			
● プレパックタイプのFPLC精製カートリッジ							
HisTALON™ Superflow Cartridges	1 ml×5	635650	¥35,000	●			
HisTALON™ Superflow Cartridge	5 ml	635683	¥23,000	充填カートリッジ			
HisTALON™ Buffer Set	20回	635651	¥37,000			●	●
● プレパックタイプの自然落下式カラム							
HisTALON™ Gravity Column Purification Kit	1 Kit	635654	¥47,000	● 充填カラム		●	●
HisTALON™ Gravity Columns	1 ml×5	635655	¥18,000	● 充填カラム			
● 磁気ビーズ型レジン							
TALON® Magnetic Beads	1 ml×2	635636	¥31,000	●			
TALON® Magnetic Beads Buffer Kit	1 Kit	635638	¥53,000			●	●
● レジン充填済みスピンカラムタイプ…小スケールで簡便に							
TALON® Spin Columns	10本	635601	¥20,000	● 充填カラム			
● 細菌または細胞からのHisタグ融合タンパク質抽出専用バッファー							
xTractor™ Buffer Kit	1 Set	635623	¥48,000			●	
xTractor™ Buffer	100 ml	635656	¥17,000			●	

容量違いも多数ラインナップしています。詳しくは弊社ウェブカタログをご覧ください。

タンパク質精製

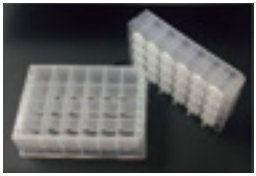
Capturem™ とは？

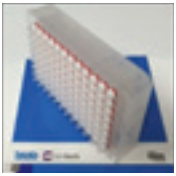
Capturemとは、捕獲(**Capture**)と膜(**Membrane**)を組み合わせた造語で、捕獲能力のあるメンブレンを意味します。ナイロンベースの膜テクノロジーにより、室温下での遠心による簡単・迅速なタンパク質操作を可能にした画期的な製品で、レジンカラムやビーズ法のような長時間のインキュベーションも必要ありません。
製品フォーマットもミニプレップ、マキシプレップ、プレートタイプなど豊富にご用意。実験に合わせてお選びいただけます。


Miniprep

Maxiprep

Large volume


24 well


96 well

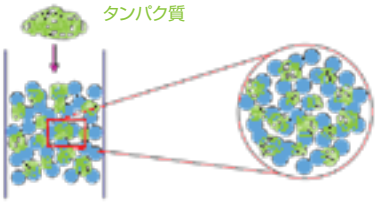
◆ Capturem™と従来のレジンカラムとの比較

＜Capturem™＞

独自のポリマー構造で表面積大幅増

- ベッドボリューム：小さい
- カラム内でのタンパク質の拡散：速やか
- 分離速度：速やか

＜従来のレジンカラム＞

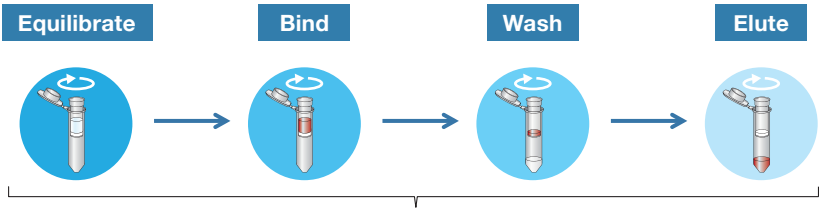


- ベッドボリューム：大きい
- カラム内でのタンパク質の拡散：緩やか
- 分離速度：緩やか

大きな膜表面積で高容量を実現しています。

精製に長時間を要するレジンカラムに比べ、新テクノロジーの高容量膜細孔は迅速に滴下し、短時間で精製が可能です。低い圧力で滴下できるため、タンパク質の品質低下を招きません。また、ベッドボリュームが小さく、洗浄バッファーの残存がない高純度な精製が可能です。

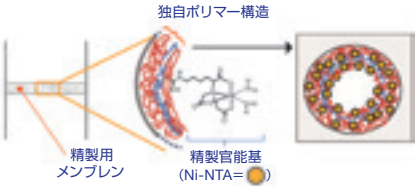
◆ Capturem™シリーズの基本的なワークフロー



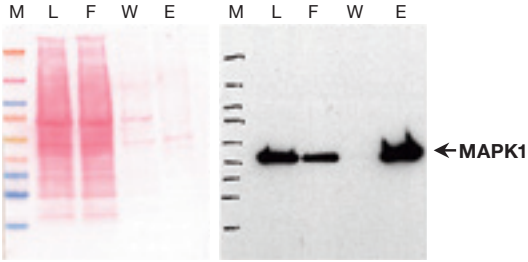
Miniなら5分、Maxiおよび24 / 96 well plateなら15分以内で精製完了！

1 Capturem™ His-Tagged Purification　わずか5分(または15分)でHisタグ精製

- **短時間かつ簡便な操作で高純度精製が可能**
  培養液からclear lysateを調製し、スピンカラムにロードして完了。
  短時間操作で品質低下を防ぎ、しかも高収率、高純度の精製が可能です。
- **操作は室温下。哺乳類細胞やバクテリアサンプルに対応**
  革新的なナイロン膜がカラムに格納されており、室温下で迅速な操作が可能です。
- **様々な添加剤存在下でも一貫した高性能を発揮**
  変性剤(8 M Urea、6 M Guanidine-HCl)や添加剤(β-ME、EDTA、DTT、グリセロール、TCEPほか)の存在下、様々なバッファー等、幅広い条件下で一貫して高性能を示します。
- **ベッドボリュームが小さく、高濃度溶出が可能**



◆ 哺乳類細胞で発現させたHisタグ融合タンパク質の精製

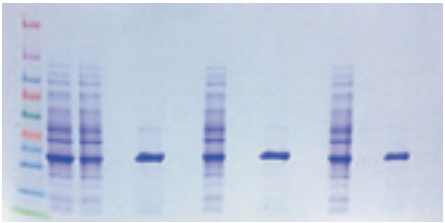


M：Marker　L：Lysate　F：Flow through　W：Wash　E：Eluate

293T細胞に、6×HisタグをMAPK1をコードするプラスミドをトランスフェクションし、Capturem His-Tagged Purification Miniprep Kitを用いて発現タンパク質を精製した。平衡化したカラムに細胞ライセートを通し、洗浄バッファー400 µlで洗浄後、溶出バッファー300 µlで溶出した。各フラクションを4～20%ポリアクリルアミドゲルで泳動後、ニトロセルロースメンブレンにブロッティングし、ポンソーS染色、およびウェスタンブロッティングを行った。ポンソー染色(左)では、各フラクションの全てのバンドが染色される。ウェスタンブロッティング(右)には、MAPK1に特異的な抗体を用いた。

◆ 添加剤存在下でも高純度精製が可能

● Capturem His-Tagged Purification Miniprep KitにおけるEDTAの影響を検討



Sample	Amount of Eluate 1
1 mM EDTA	139 µg
5 mM EDTA	112 µg
10 mM EDTA	98 µg

1 mM、5 mM、または10 mMのEDTA存在下で、6×Hisタグ融合GFPuvタンパク質を精製した。サンプル、平衡化バッファー、洗浄バッファー、溶出バッファーにそれぞれEDTAを加えて精製操作を行い、300 µlの溶出バッファーで2回溶出した。

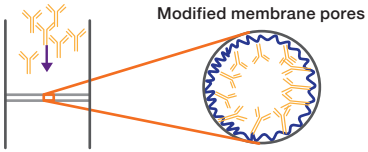
M：Marker　L：Lysate　F：Flow through
W：Wash　E1：Eluate 1　E2：Eluate 2

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit	20回	635710	¥34,000
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Kit	6回	635713	¥45,000
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Columns	50本	635719	¥190,000
Capturem™ His-Tagged Purification 96-Well Plate	96 well plate	635714	¥64,000

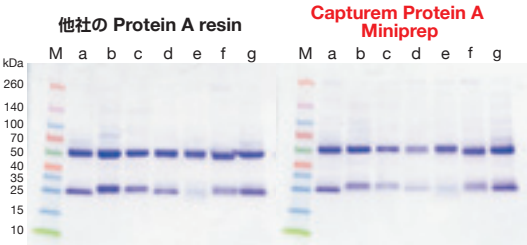
タンパク質精製

2 Capturem™ Protein A　わずか5分(または15分)で抗体精製

- **室温、わずか5分(Miniprepの場合)で高純度精製が可能**
  動物血清や培養液などをそのままスピンカラムにロードして完了。短時間操作で品質低下を防ぎ、しかも高収量、高純度の精製が可能です。
- **操作は室温下**
  革新的な膜テクノロジーの採用により、室温下で迅速な操作が可能です。
- **幅広い生物種の抗体を精製可能**
- **ベッドボリュームが小さいため、高濃度溶出が可能**



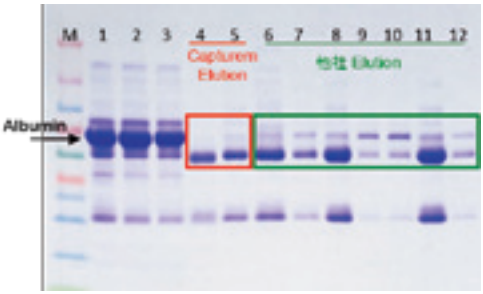
◆ 他社製品との比較 ①　ー収量ー　他社製品より、高収量の抗体精製が可能！



	Amount in Elution Samples (μg)	
Sample	Protein A resin	Capturem Protein A Miniprep
a) Mouse	90	**122**
b) Sheep	94	**207**
c) Goat	55	**104**
d) Rat	42	**191**
e) Rabbit	70	**94**
f) Horse	80	**251**
g) Human	114	**180**

各種動物血清からの抗体精製を、Capturem Protein A Miniprepおよび他社のProtein A resinを用いて比較した。精製した抗体は、SDS-PAGEを行い、クマシーブルーで染色を行った(左図)。精製抗体の収量は、280 nmの吸光度で測定した(右表)。
Capturem Protein A Miniprepは他社Protein A resinより高収量の抗体精製が可能である。　(TB USA社比較データ)

◆ 他社製品との比較 ②　ー純度ー　他社製品より、高純度の抗体精製が可能！



1. Human Serum
2. B社 Wash 画分
3. C社 Wash 画分
4. Capturem Elution (ウマ血清から精製)
5. Capturem Elution
6. A社 Elution 1
7. A社 Elution 2
8. B社 Elution 1
9. B社 Elution 2
10. B社 Elution 2 (repeat)
11. C社 Elution 1
12. C社 Elution 2

ヒト血清からの抗体精製を、Capturem Protein A(赤枠)および他社Protein A resin(緑枠)を用いて比較した。Capturem Protein Aでは他社のProtein A resinと比べて血清中アルブミンが確実に除去された。Capturem Protein Aは他社Protein A resinより高純度の抗体精製が可能である。　(TB USA社比較データ)

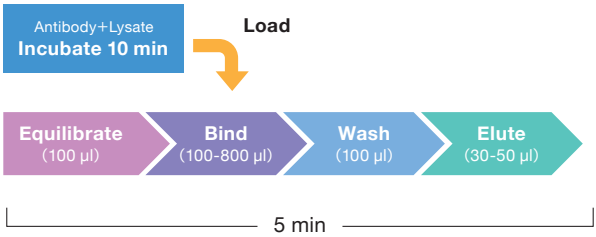
製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
Capturem™ Protein A Miniprep Columns	12回	635717	¥34,000
Capturem™ Protein A Maxiprep Columns	6回	635720	¥52,000

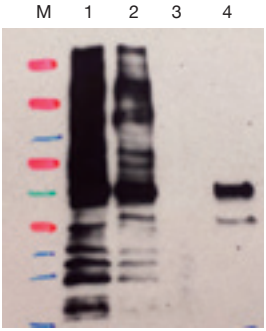
〔関連製品〕 Capturem™ IP & Co-IP　わずか15分で免疫沈降

- **免疫沈降・共免疫沈降実験に最適なキット**
  高性能メンブレンを装着したカラムに加えて、細胞の溶解、カラムの結合・洗浄、抗体－抗原複合体の溶出のためのバッファーも含まれています。
- **室温・短時間操作で、タンパク質凝集や複合体解離、活性低下を防止**
- **種々の免疫沈降用バッファーや条件に適応**
- **ディスポーザブルカラムで、コンタミネーションやキャリーオーバーのリスクを低減**

◆ 迅速で効率的な免疫沈降　迅速なIP操作が可能！

＜実験フロー図＞

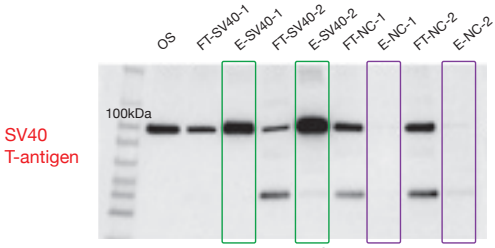




M : Marker
1 : Lysate
2 : Flowthrough
3 : Wash
4 : Eluate

PP2A B subunit

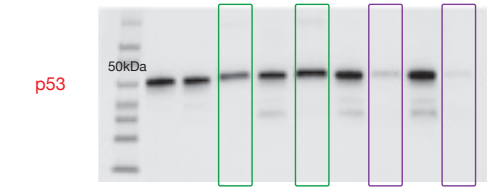
◆ Capturem™ IP & Co-IP Kitを用いた共免疫沈降



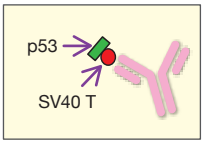
Anti-SV40 T HRP antibody

293T細胞由来Cell lysate(100 µg)に1 µgの抗SV40 T抗体(rabbit polyclonal, V-300, SCBT)を添加し、室温20分間インキュベートした。ネガティブコントロール(NC)として、抗SV40 T抗体非添加の293T細胞由来Cell lysateを使用した。免疫沈降実験はN=2で実施した。

迅速で効率的な共免疫沈降ができた。



Anti-p53 HRP antibody



Anti-SV40 T-antigen rabbit polyclonal antibody used for incubation with 293T cell lysate
OS : Original Sample
FT : Flowthrough
E : Eluate
NC : Negative Control (no Ab incubation)

製　品　名	容　量	製品コード	価格(税別)
Capturem™ IP & Co-IP Kit	12回	635721	¥34,000

〔ご参考〕 主要制限酵素 Double Digestion 用推奨 Universal Buffer

pUC系プラスミドのクローニングサイトの酵素を中心に、Double Digestionに使用する最適なUniversal Buffer条件を示します。表中のUniversal Bufferの前に記している「数字×」は、各Bufferの最終濃度です。タカラバイオのUniversal Bufferは全て10×濃度で供給していますので、0.5×は20倍、1×は10倍、2×は5倍に希釈して使用してください。また、BSAも10×濃度(0.1%)なので、10倍希釈して最終濃度0.01%にして使用します。

	Acc I	*Bam*H I	*Bgl* II	*Cla* I	*Eco*R I	*Eco*R V	*Hinc* II	*Hind* III	*Kpn* I	*Nco* I
Acc I	–	0.5 × K	1 × T	1 × M	1 × M	0.5 × K	1 × M	1 × M	1 × M	1 × M +BSA
*Bam*H I	0.5 × K	–	1 × K	1 × K	1 × K	1 × K	0.5 × K	1 × K	0.5 × K	1 × K +BSA
Bgl II	1 × T	1 × K	–	1 × H	1 × H	1 × H	2 × K	1 × K	1 × T	1 × K +BSA
Cla I	1 × M	1 × K	1 × H	–	1 × H	1 × H	1 × M	1 × M	1 × M	1 × K +BSA
*Eco*R I	1 × M	1 × K	1 × H	1 × H	–	1 × H	1 × M	1 × M	1 × M	1 × K +BSA
*Eco*R V	0.5 × K	1 × K	1 × H	1 × H	1 × H	–	2 × T	1 × K	0.5 × K	1 × K +BSA
Hinc II	1 × M	0.5 × K	2 × K	1 × M	1 × M	2 × T	–	1 × M	1 × M	1 × M +BSA
Hind III	1 × M	1 × K	1 × K	1 × M	1 × M	1 × K	1 × M	–	1 × M	1 × K +BSA
Kpn I	1 × M	0.5 × K	1 × T	1 × M	1 × M	0.5 × K	1 × M	1 × M	–	0.5 × K +BSA
Nco I	1 × M +BSA	1 × K +BSA	1 × K +BSA	1 × K +BSA	1 × K +BSA	1 × K +BSA	1 × M +BSA	1 × K +BSA	0.5 × K +BSA	–
Nde I	1 × T	1 × K	1 × H	1 × H	1 × H	1 × H	1 × T	1 × K	1 × T	1 × K +BSA
Not I	0.5 × K +BSA	0.5 × K +BSA	1 × H +BSA	1 × H +BSA	1 × H +BSA	1 × H +BSA	0.5 × K +BSA	0.5 × K +BSA	0.5 × K +BSA	0.5 × K +BSA
Pst I	1 × M	1 × K	1 × H	1 × H	1 × H	1 × H	1 × M	1 × M	1 × M	1 × K +BSA
Pvu I	0.5 × K	1 × K	1 × K	1 × K	1 × K	1 × K	0.5 × K	1 × K	0.5 × K	1 × K +BSA
Sac I	1 × M	0.5 × K	0.5 × K	1 × M	1 × M	0.5 × K	1 × M	1 × M	1 × L	0.5 × K +BSA
Sal I	1.5 × T	1.5 × T	1 × H	1 × H	1 × H	1 × H	1.5 × K	1.5 × K	1.5 × T +BSA	1.5 × T +BSA
Sma I	1 × T +BSA	0.5 × T +BSA	1 × T +BSA	1 × T +BSA	1 × T +BSA	0.5 × K +BSA	1 × T +BSA	1 × T +BSA	1 × T +BSA	1 × T +BSA
Spe I	1 × M	1 × K	1 × H	1 × M	1 × H	1 × H	1 × M	1 × M	1 × M	1 × K +BSA
Sph I	0.5 × K	1 × K	1 × H	1 × H	1 × H	1 × H	2 × T	1 × K	0.5 × K	1 × K +BSA
Xba I	1 × M	0.5 × K	2 × T	1 × M	1 × M	2 × T	1 × M	1 × M	1 × M	1 × M +BSA
Xho I	1 × M	1 × K	1 × H	1 × H	1 × H	1 × H	1 × M	1 × M	1 × M	1 × K +BSA

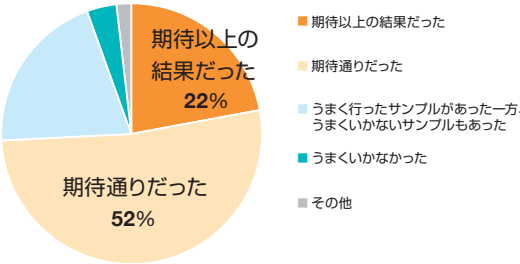
注1）1 μg DNA / 50 μl反応液に対し各酵素10 Uを添加して37℃、1時間反応させることで完全分解できることを確認している。
注2）反応液中のグリセロール濃度は、Star活性をできるだけ抑えるために10%以下で使用する。
注3）DNAの種類や高次構造、認識切断部位が近接している場合などは、完全分解できない場合がある。

Nde I	*Not* I	*Pst* I	*Pvu* I	*Sac* I	*Sal* I	*Sma* I	*Spe* I	*Sph* I	*Xba* I	*Xho* I
1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×T	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
1×K	0.5×K +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1.5×T	0.5×T +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1×K
1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	2×T	1×H
1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×M	1×H	1×M	1×H
1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×M	1×H
1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	0.5×K +BSA	1×H	1×H	2×T	1×H
1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×K	1×T +BSA	1×M	2×T	1×M	1×M
1×K	0.5×K +BSA	1×M	1×K	1×M	1.5×K	1×T +BSA	1×M	1×K	1×M	1×M
1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×L	1.5×T +BSA	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
1×K +BSA	0.5×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	0.5×K +BSA	1.5×T +BSA	1×T +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×M +BSA	1×K +BSA
—	1×H +BSA	1×H	1×K	1×T	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×T	1×H
1×H +BSA	—	1×H +BSA	2×K +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA	0.5×T +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA
1×H	1×H +BSA	—	1×K	1×M	1×H	0.5×T +BSA	1×H	1×H	1×M	1×H
1×K	2×K +BSA	1×K	—	0.5×K	1.5×K +BSA	1×K +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1×K
1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	—	1.5×T +BSA	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
1×H	1×H +BSA	1×H	1.5×K +BSA	1.5×T +BSA	—	1.5×T +BSA	1×H	1×H	1.5×T	1×H
1×T +BSA	0.5×T +BSA	0.5×T +BSA	1×K +BSA	1×T +BSA	1.5×T +BSA	—	1×T +BSA	0.5×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA
1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	—	1×H	1×M	1×H
1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	0.5×T +BSA	1×H	—	2×T	1×H
1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×T	1×T +BSA	1×M	2×T	—	1×M
1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×M	—

☆★In-Fusion® Snapモニター結果のご紹介★☆

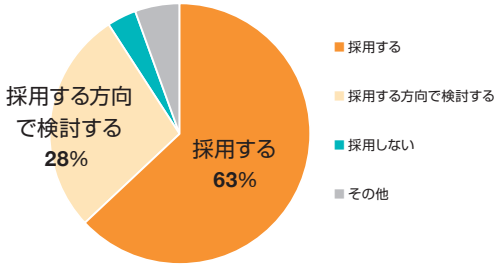
In-Fusion® Snapを使った感想やデータをウェブページで随時更新しており、その一部をご紹介します。
In-Fusion® Snapの高いパフォーマンスをご確認いただき、まだお使いでない方は、ぜひ一度お試しください！

1. In-Fusion® Snap の評価結果はいかがでしたか？



ネガティブな評価はわずかでした！

2. 今後 In-Fusion® Snap を採用しますか？



「採用する」「採用する方向で検討する」が、なんと90%以上!!

コロニーPCRですべてのコロニーにインサートがあり、予想以上の効率で驚いた。

In-Fusion® HDで長鎖のVector & Insertで苦労していたが、Snapを使用する事で素早く解決した。

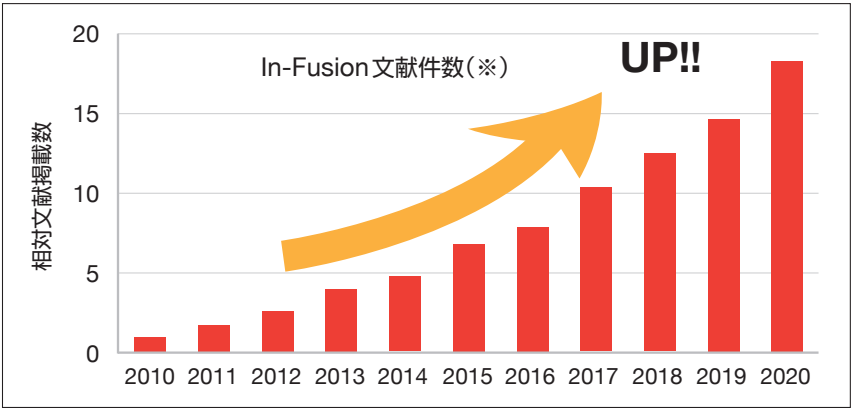
学部4年生が初めて実施してもうまくいき、大変満足しています。

初心者でも簡単な操作で問題なくできた

従来の製品でも十分の効率だったが、新製品では得られたコロニー殆どに遺伝子が導入されており、驚くべき効率だった。

多くの方にご満足いただいています！

☆★年々増え続ける使用実績★☆



※："In-Fusion cloning"でGoogle Scholarを使って集計し、2010年の論文ヒット件数を１とした相対文献掲載数を示す。

右肩上がりの相対文献掲載数は、正に製品の高い信頼性を示しています！

◆使用文献例◆

CRISPRシステムにおいてIn-Fusionが使用された例

Peter Gee, *et al*., Extracellular nanovesicles for packaging of CRISPR-Cas9 protein and sgRNA to induce therapeutic exon skipping. *Nat. commun*, (2020) Mar 13; **11**(1):1334.

In-Fusionを用いて構築したプラスミドを使用し、ハイスループットスクリーニングを行った例

ROSANA S. MOLINA, *et al*., High throughput instrument to screen fluorescent proteins under two-photon excitation. *Biomedical Optics Express*, (2020) Dec 1; **11**(12):7192-7203.

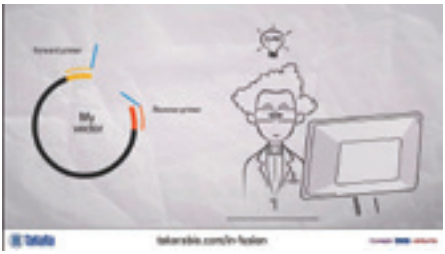
In-Fusionを用いてプラスミドを構築した例

Luiza Cesca Piva, *et al*., Construction and characterization of centromeric plasmids for *Komagataella phaffii* using a color-based plasmid stability assay. *PLoS One*, (2020) **15**(7): e0235532.

★弊社ウェブサイトでこのほかにも「使用文献」をご紹介しています。

In-Fusion®について動画で分かりやすくご紹介！

that's GOOD science!™



「In-Fusionクローニングのメカニズム」
In-Fusionの原理を動画で分かりやすく説明しています！

「In-Fusionを用いたアプリケーション」
In-Fusionの使い方は多岐にわたります。どんな用法があるのか、ぜひご覧ください！

「In-Fusionクローニング vs 他のシームレスクローニング技術」
同じに見えても他のシームレスクローニング技術よりメリットがあるIn-Fusion。その秘密をご覧ください！

YouTube **タカラバイオ公式チャンネル** でもご覧いただけます！

関連製品　アガロースゲル電気泳動

クローニング実験において、DNAの検出、定量は欠くことのできない操作です。その中でもアガロースゲル電気泳動によるDNAの検出は日常的に行われる手法です。

アガロースの種類と濃度の選択

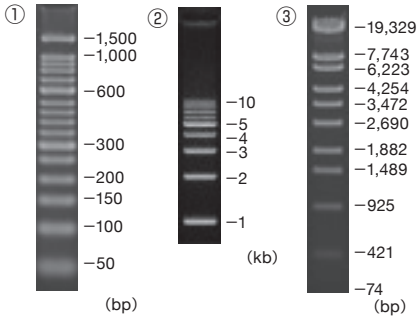
分離範囲	推奨アガロース	ゲル濃度
500 bp未満	PrimeGel Agarose PCR-Sieve など	3%
500～5,000 bp	Agarose L03、PrimeGel Agarose LE 1-20K など	1%
5,000 bp以上	PrimeGel Agarose GOLD 3-40K	0.5%

DNA分子量マーカーのアガロースゲル電気泳動例

① 50 bp DNA Ladder（製品コード 3421A）
（3% PrimeGel Agarose PCR-Sieve）

② 1 kb DNA Ladder（製品コード 3426A）
（1% Agarose L03）

③ λ-*Eco*T14 I digest（製品コード 3401）
（1% PrimeGel Agarose LE 1-20K GAT）



	製　品　名	概　要	容　量	製品コード	価格(税別)
アガロース各種	**Agarose L03「TAKARA」**	1 kb以上の核酸の分離に	100 g	5003	¥18,000
	PrimeGel™ Agarose LE 1-20K GAT	1 kb以上の核酸の分離・回収に(高品質タイプ)	100 g	5801A	¥34,000
	PrimeGel™ Agarose PCR-Sieve	PCR増幅産物など1 kb以下の核酸の分離に	100 g	5810A	¥48,000
バッファーパウダー	**Tris-Acetate-EDTA Buffer（TAE）50x Powder, pH8.3**	1包を蒸留水に溶解して1 Lの50 × TAEを作製	1 pouch	T9131	¥18,900
	Tris-Borate-EDTA Buffer（TBE）Powder, pH8.3	1包を蒸留水に溶解して1 LのTBEを作製	10 pouches	T9121	¥10,500
分子量マーカー	**100 bp DNA Ladder（Dye Plus）**	100～1,500 bpの11本のバンド	500 µl（100回）	3422A	¥20,000
	1 kb DNA Ladder（Dye Plus）	1～10 kbの10本のバンド	500 µl（100回）	3426A	¥14,000
電気泳動装置	**Mupid®-2plus**	スタンダードモデル	一式	M-2P	¥40,760
	Mupid®-exU	高機能モデル	一式	EXU-1	¥56,950
	Mupid®-One	ヨーロッパ電気安全規格CEに準拠	一式	O1-01	¥62,000

・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。　・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。　・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。　・本パンフレットに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。　・本パンフレット記載の価格は2021年8月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

タカラバイオ株式会社

首都圏支店・東日本支店・西日本支店　TEL 03-3271-8553
関西支店・営業第2部　TEL 077-565-6969
テクニカルサポートライン
TEL 077-565-6999　FAX 077-565-6995
Website　https://www.takara-bio.co.jp
Facebook　https://www.facebook.com/takarabio.jp

取扱店

2024年7月修正N