

免疫沈降・抗体精製ガイド 2020-2021

- ・ 免疫沈降・共免疫沈降用スピncラム
Capturem™ IP & Co-IP Kit
- ・ Protein A / Gによる抗体精製用スピncラム
Capturem™ Protein A / Gシリーズ

革新的な膜テクノロジーを使用したスピncラム
“Capturem™”が、
簡単・迅速な精製を可能にします！

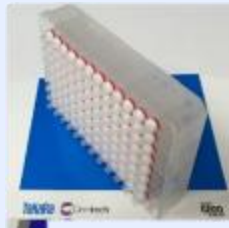


Capturem™とは？

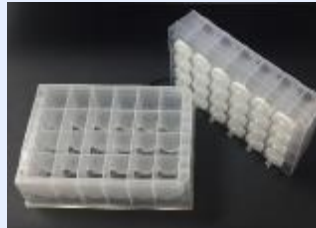
Capturem™とは、捕獲(**Capture**)と膜(**Membrane**)を組み合わせた造語で、捕獲能力のあるメンブレンを意味します。ナイロンベースの膜テクノロジーにより、室温下での遠心による簡単・迅速なタンパク質操作を可能にした画期的な製品で、レジンカラムやビーズ法のような長時間のインキュベーションも必要ありません。製品フォーマットもミニプレップ、マキシプレップ、プレートタイプなど豊富にご用意。実験に合わせてお選びいただけます。



Miniprep



96 well



24 well



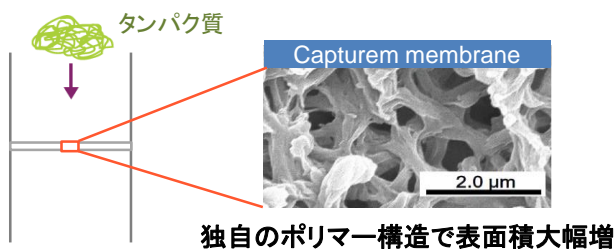
Maxiprep



Large volume

★ Capturem™と従来のレジンカラムとの比較

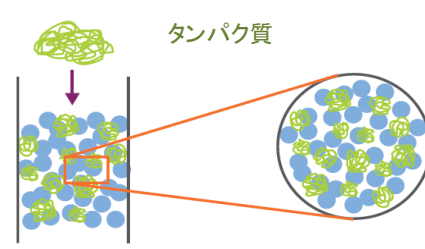
< Capturem™ >



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 >

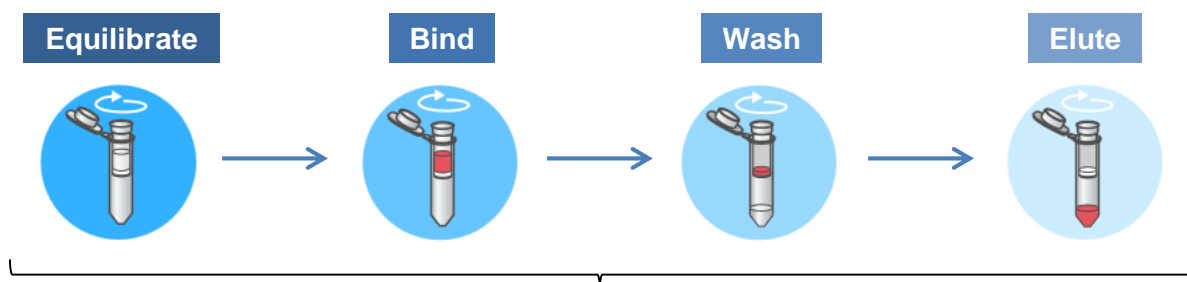


- ベッドボリューム: **大きい**
- カラム内でのタンパク質の拡散: **緩やか**
- 分離速度: **緩やか**

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、短時間での精製が可能です。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、Bed volume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96 well plateなら15分以内で精製完了！

迅速・簡単な免疫沈降、共免疫沈降実験に最適化したスピнкаラム Capturem™ IP & Co-IP Kit

- 免疫沈降、共免疫沈降実験に最適化したカラムとバッファーが含まれた完全キット
- サンプルと免疫沈降用抗体を10分間インキュベートした後、5分で精製が行える簡単、迅速なワークフロー
- 少ない溶出量で、高濃度のタンパク質複合体の溶出が可能
- 操作が短時間のため、タンパク質凝集や複合体解離、また活性低下を回避
- 種々の免疫沈降用バッファーや条件に適応
- ディスポーザブルのスピнкаラムを用いた次世代メンブレン技術によりコンタミネーションやキャリーオーバーのリスクが低減

実験フロー図

Antibody + Lysate Incubate 10 min

Load

Equilibrate (100 µl) → Bind (100-800 µl) → Wash (100 µl) → Elute (30-50 µl)

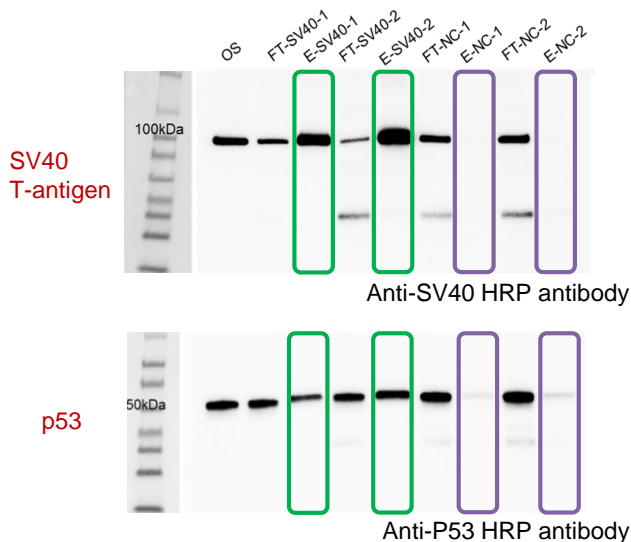
5 min

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

PP2A B subunit

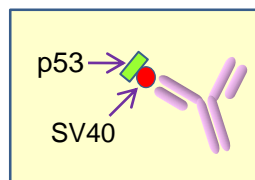
5分で操作完了。簡単に抗原・抗体複合体を精製できました！

Capturem™ IP & Co-IP Kitを用いた共免疫沈降



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SV40T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-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

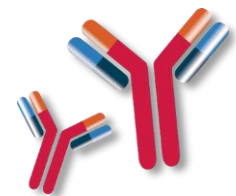
最短5分！迅速・簡単な抗体精製が可能なスピニングカラム

Capturem™ Protein A

- 次世代メンブレン技術を用いた抗体精製用カラム
- Miniprep、Maxiprep、24 well、96 wellの4種類をご用意
- 室温、短時間の操作で抗体を簡単精製。動物血清や培養液などを希釈し、そのままロードして完了
- 幅広い生物種の抗体精製が可能
- 小ベッドボリュームのため、高純度、高収量、高濃度の溶出が可能

■ 様々な生物種由来抗体との結合能 (Capturem™ Protein A Miniprep)

抗体由来生物種	結合能 (µg/column) *
Goat	100~150
Horse	> 150
Human	> 150
Mouse	100~150
Rabbit	50~100
Rat	> 150
Sheep	> 150



mouse IgGの場合の吸着量：40~60 µg/column

* 各生物の血清はリン酸binding buffer (pH8.0) に希釈し、本カラムへ添加した。

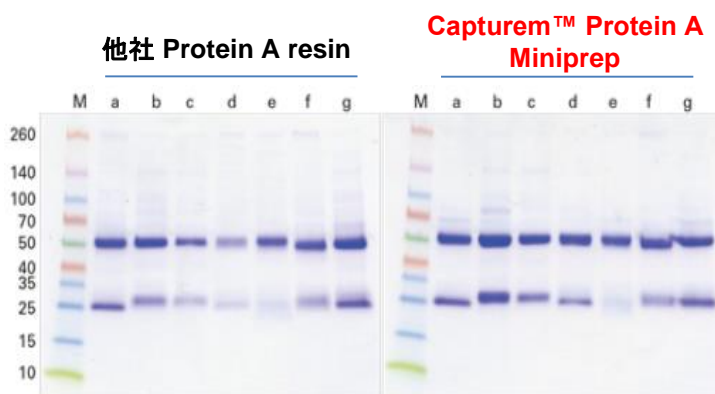
■ Protein Aのフォーマットおよび収量

	Miniprep Columns	Maxiprep Columns	24-Well Plate - HC	96-Well Plate
回数	12回	6回	24 well	96 well
サンプル希釈液の使用量	200~800 µl	2~20 ml	0.5~4.5 ml	200~1,000 µl/well
精製時間	5分	15分	15分	15分
収量	0.3 mg protein /column	2.5 mg protein /column	0.4 mg protein/well	0.3 mg protein/well
溶出濃度	1~3 mg protein/ml	0.6~1.6 mg protein /ml	0.3~0.8 mg protein /ml	1~3 mg protein/ml
遠心条件	1,000 × g 1分	2,000 × g 3分*	600 × g 2分*	2,000 × g 3分*

* Maxiprepには50 mlチューブ用の遠心機が必要です。

24 well plateには24 well plate用の、96 well plateには96 well plate用の遠心機または吸引濾過のための機器が必要です。

■ 他社Protein A resinとの比較① -収量-

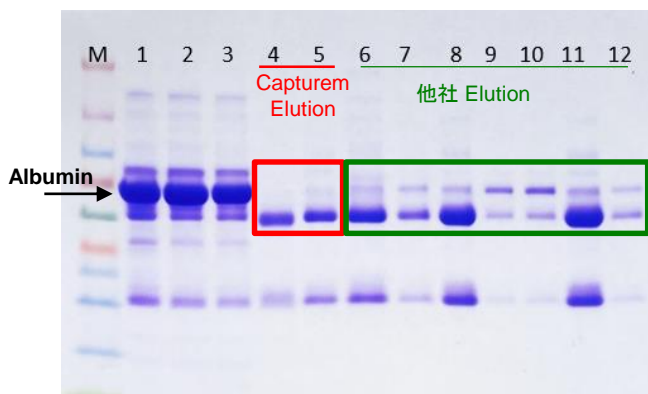


抗体由来生物種	回収量 (μg)	
	他社 Protein A resin	Capturem™ Protein A Miniprep
a) Mouse	90	122
b) Sheep	94	207
c) Goat	55	104
d) Rat	42	191
e) Rabbit	70	94
f) Horse	80	251
g) Human	114	180

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)。(TB USA社比較データ)

他社製品より、高収量の抗体精製が可能！！

■ 他社Protein A resinとの比較② -純度-



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

ヒト血清からの抗体精製を、Capturem™ Protein A Miniprepを使用した場合と他社Protein A resinを使用した場合で比較した。Capturem™ Protein A (赤枠)は、他社のProtein A resin(緑枠)と比較してヒト血清中アルブミンがより確実に除去されている。(Lane4のみウマ血清を用いている。)(TB USA社比較データ)

他社製品より、高純度の抗体精製が可能！！

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Capturem™ Protein A Miniprep Columns	12本	635717	¥34,000
Capturem™ Protein A Maxiprep Columns	6本	635720	¥52,000
Capturem™ Protein A 24-Well Plate	24 well plate × 1	635731	¥80,000
Capturem™ Protein A 24-Well Plate - HC	24 well plate × 1	635743	¥80,000
	24 well plate × 4	635742	¥280,000
Capturem™ Protein A 96-Well Plate	96 well plate × 1	635716	¥78,000

注) 本製品にはバッファーは含まれていません。別途、Capturem Protein A Buffer(製品コード 635746)をご購入いただくか、弊社ウェブサイトをご覧ください。

最短5分！迅速・簡単な抗体精製が可能なスピニングタイプ

Capturem™ Protein G

※製品の特長は、Capturem Protein A (3ページ) をご参照ください。

■ Protein Gのフォーマットおよび収量

	Miniprep Columns	Maxiprep Columns	24-Well Plate - HC	96-Well Plate
回数	10回	6回	24 well	96 well
サンプル希釈液の使用量*1	100~800 µl	2~20 ml	0.5~4.3 ml/well	200~1,000 µl/well
精製時間	5分	15分	15分	15分
最大収量*2	60 µg	1.2 mg	600 µg*3	60 µg
標準溶出液量	100~300 µl	0.5~1.5 ml	1.8 ml	100~300 µl

- *1 binding bufferで1:2~1:15希釈
ハイブリードマサンプルの場合は1:2~1:4希釈、血清サンプルの場合は1:15希釈をお勧めします。
- *2 サンプルのタイプ、種類、抗体アイソタイプによって異なります。
- *3 HEK293細胞上清に1 mgのマウスIgG1を添加した場合の収量です。

■ Protein AとProtein Gのアイソタイプ親和性

Species	Antibody subtype	Protein A	Protein G	Protein A/G	Species	Antibody subtype	Protein A	Protein G	Protein A/G
Human	Total IgG	+++	+++	+++	Mouse	Total IgG	+++	+++	+++
	IgG1	+++	+++	+++		IgM	-	-	-
	IgG2	+++	+++	+++		IgG1	+	++	++
	IgG3	+	+++	+++		IgG2a	+++	+++	+++
	IgG4	+++	+++	+++		IgG2b	+++	+++	+++
	IgM	+	-	+	Rat	IgG3	+++	+++	+++
	IgD	-	-	-		Total IgG	+	++	++
	IgA1	+	-	+		IgG1	+	++	++
	IgA2	+	-	+		IgG2a	-	+++	+++
	Fab	+	+	+		IgG2b	-	+	+
scFv	+	-	+	IgG2c	+++	+++	+++		
				Rabbit	Total IgG	+++	+++	+++	

+++ strong binding ++ medium binding + weak binding
- no binding

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Capturem™ Protein G Miniprep Columns	10本	635725	¥34,000
Capturem™ Protein G Maxiprep Columns	6本	635727	¥52,000
Capturem™ Protein G 24-Well Plate	24 well plate × 1	635732	¥80,000
Capturem™ Protein G 24-Well Plate - HC	24 well plate × 1	635745	¥80,000
	24 well plate × 4	635744	¥280,000
Capturem™ Protein G 96-Well Plate	96 well plate × 1	635726	¥78,000

注) 本製品にはバッファーは含まれていません。弊社ウェブサイトをご覧ください。

■ アプリケーション

わずか15分で完了する「Capturem™ テクノロジー」を用いた抗体標識

抗体標識とは？

蛍光色素やビオチンなどで抗体を標識する技術です。
主に免疫化学研究で利用され、抗体-薬物複合体 (Antibody-drug conjugate, ADC) の医薬品研究において重要な役割を担っています。

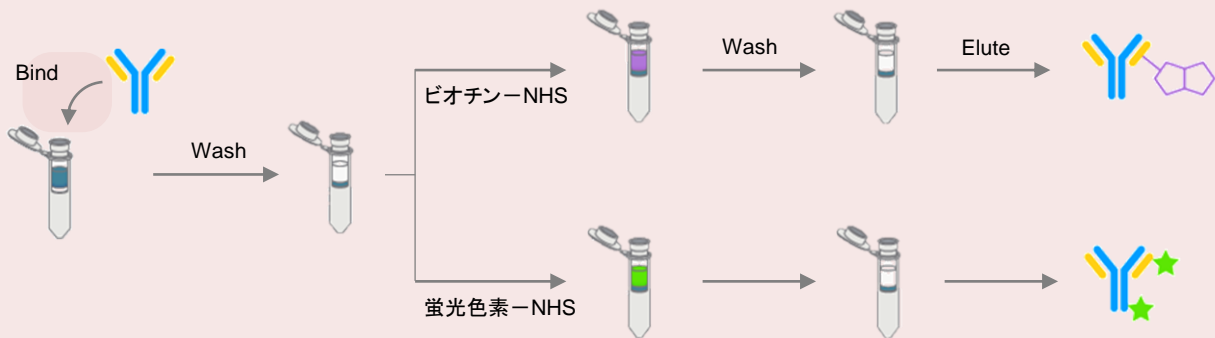
◆ 従来方法

長時間のインキュベーションや、標識した抗体を精製してから使用する必要がある。
→ 時間と労力がかかってしまう！



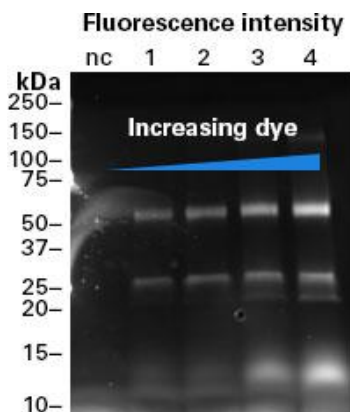
◆ Capturem™ テクノロジーなら...

カラム上で抗体の標識を行うことで、未精製の抗体を直接利用できるようになり、わずか**15分**で蛍光色素やビオチンで標識が可能に！



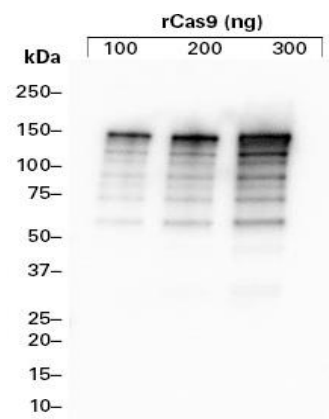
○ 実施例①: 抗体の蛍光標識

蛍光色素-NHSで、Cas9検出用マウスIgG抗体を標識する実験を行いました。
その結果、蛍光色素で標識された抗体 40 µgが得られました。



○ 実施例②: 抗体のビオチン標識

ビオチン-NHSで、Cas9検出用マウスIgG抗体を標識する実験を行いました。
その結果、標識・溶出後も結合しているエピトープが活性を維持していることが示されました。



★ 詳細は弊社ウェブサイトのTech Noteをご覧ください。

Capturem 抗体精製



★ Capturem™ シリーズの豊富なラインナップ

Capturem™ シリーズには、抗体精製用キットのほかにHisタグ精製用キット、タンパク質消化用キットおよびエキソソームなどの細胞外小胞の精製用キットを取り揃えています。これらもぜひお試しください！



★ Hisタグ精製およびProtein Aキットの無料サンプルをご提供



製品をご購入の前に、性能やサンプルとの相性を無料でお試し！
サンプルのお申込みは弊社ウェブサイトからどうぞ！



製品名	容量	製品コード
Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit sample	2回	635711
Capturem™ Protein A Miniprep Sample	2回	635718

・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ている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。
 ・本パンフレット記載の価格は2020年9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。

2020年8月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282

関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995

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 <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店