

タンパク質等の 生体サンプル調製用試薬

Protein and Biological Sample Preparation Reagents



プロテアーゼ阻害剤

タンパク質の分解は、プロテアーゼによる分解が最も一般的で、外部からのコンタミネーションに限らず抽出組織や細胞由来のプロテアーゼによるものであることが多いです。プロテアーゼには阻害特性の違う様々な種類があるため、阻害剤を組み合わせることで使用することが効果的です。

プロテアーゼ阻害剤カクテル

100×Protease Inhibitor Cocktail (EDTA free)

1 vial [P2949]

100×Protease Inhibitor Cocktail

1 vial [P2976]

特長

- 1 mLの精製水に溶解するだけで100倍濃縮液として使用可能
- 目的タンパク質を幅広いプロテアーゼによる分解から保護
- P2949はEDTAを含まないため、金属キレートアフィニティー精製にも適合

構成成分

プロテアーゼ阻害剤	ターゲットプロテアーゼ	P2949	P2976
AEBSF	セリンプロテアーゼ	○	○
Aprotinin	セリンプロテアーゼ エステラーゼ	○	○
EDTA	金属プロテアーゼ		○
E-64	システインプロテアーゼ	○	○
Leupeptin	システインプロテアーゼ トリプシン様プロテアーゼ	○	○

システインプロテアーゼ阻害剤

2-Iodoacetamide

5g [I0741]

E-64d

5mg / 25mg [E1337]

セリンプロテアーゼ阻害剤

AEBSF (= 4-(2-Aminoethyl)benzenesulfonyl Fluoride Hydrochloride)

100mg / 1g [A2215]

Benzamidinium Hydrochloride

5g [B3379]

PMSF (= Phenylmethylsulfonyl Fluoride)

5g / 25g [B3473]

メタロプロテアーゼ阻害剤

EDTA 2Na Dihydrate

5g / 25g [D3789]

EDTA 3Na Hydrate

5g / 25g [T2599]

EGTA

5g / 25g [E0805]

1,10-Phenanthroline Monohydrate

5g [P1826]

タンパク質安定化剤

タンパク質は生体内で様々な機能を発揮する高分子化合物であり、産業や創薬への応用が盛んに研究されています。一般に溶液中で不安定であり、加熱などにより変性しやすいため、タンパク質の安定性を向上させることは非常に重要です。弊社では目的タンパク質の凝集防止に最適な安定化剤をご用意しています。

Spermidine Phosphate [for Protein Research]	1g / 5g	[P2957]
Putrescine Dihydrochloride [for Protein Research]	5g / 25g	[P3082]
Spermine Tetrahydrochloride [for Protein Research]	1g	[P2950]
L-Argininamide Dihydrochloride [for Protein Research]	500mg	[A3459]
L-Arginine Hydrochloride [for Protein Research]	5g	[A3530]
L-Arginine Methyl Ester Dihydrochloride [for Protein Research]	5g	[A3531]
L-Methioninamide Hydrochloride [for Protein Research]	500mg	[M3519]

タンパク質変性剤

タンパク質は水素結合・疎水結合・イオン結合などにより高次構造を取っていますが、熱や酸・アルカリなどによってその構造を失い変性してしまいます。カオトロピック変性剤はタンパク質の疎水性側鎖やペプチド主鎖と相互作用し、変性状態を安定化させる効果があります。また、タンパク質分子間の疎水性相互作用を低下させて凝集を抑制します。

Guanidine Hydrochloride	25g / 100g / 500g	[G0197]
Guanidine Thiocyanate	5g / 25g	[G0360]
Thiourea	5g / 25g	[T2835]
Urea	5g / 25g	[U0077]

生化学用防腐剤

生命科学研究の分野では、生物学的な試料や標本が分析に用いられています。これらの中では微生物が非常に容易に増殖します。生物学的分析に使用される緩衝液や試薬にも微生物が増殖します。このような微生物の増殖を避けるために、しばしば防腐剤が試料や緩衝液に添加されます。

Amprolium Hydrochloride	5g / 25g	[A2572]
2-n-Octyl-4-isothiazolin-3-one	1g	[O0378]
Dimetridazole	5g / 25g	[D4081]
2-Chloroacetamide	5g / 25g	[C2536]
5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane	5g	[B3769]
1,2-Benzisothiazol-3(2H)-one	5g	[B3767]
Sorbic Acid Potassium Salt	5g / 25g	[P1954]
Sorbic Acid	5g / 25g	[S0856]
1,3-Butanediol	5g / 25g	[B3770]
2-Phenoxyethanol	5g / 25g	[P1953]
2-Hydroxybenzoic Acid	5g / 25g	[H1342]
Benzoic Acid Sodium Salt	5g / 25g	[S0855]
Benzylparaben	5g / 25g	[B3768]
Isobutylparaben	5g / 25g	[I0816]
Butylparaben	5g / 25g	[B3771]
Isopropylparaben	5g / 25g	[I0817]
Propylparaben	5g / 25g	[P1955]
Ethylparaben	5g / 25g	[E0884]
Methylparaben	5g / 25g	[M2206]

界面活性剤

界面活性剤は分子内に疎水基と親水基を有する物質のことで、溶液中ではミセルなどの構造をとることによって、極性分子と非極性分子を混ぜ合わせたり、表面張力を低下させたりする能力を有します。このような性質を利用して膜タンパク質などの可溶化、容器表面への物質の非特異的吸着の低減などに用いられています。

界面活性剤は親水基の性質によって、イオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤に二分され、イオン性界面活性剤には陽イオンおよび陰イオン界面活性剤、両性界面活性剤があります。それぞれは使用目的によって使い分けられています。

陰イオン界面活性剤

Lithium Dodecyl Sulfate (= LDS)	5g / 25g [L0254]
Sodium Dodecyl Sulfate (= SDS)	25g / 500g [S0588]
Tris Dodecyl Sulfate	250mg / 1g [T3071]
Sodium Deoxycholate	25g [D1820]
Sodium Cholate	5g / 25g [S0596]
Sodium N-Lauroylsarcosinate	5g / 25g [S0597]

両性界面活性剤

Lauryl Sulfobetaine	5g / 25g [D3860]
Palmityl Sulfobetaine	5g / 25g / 100g [H1283]
Myristyl Sulfobetaine	5g / 25g [T2653]
Caprylyl Sulfobetaine	5g / 25g [D4246]
n-Octyl Sulfobetaine	5g [D4247]

非イオン界面活性剤

TRITON™ X-100 (n=approx. 10)	5g / 25g [P1775]
Polyethylene Glycol Monocetyl Ether (n=approx. 23)	5g / 25g [P1776]
Polyethylene Glycol Monododecyl Ether (n=approx. 25)	5g / 25g [P1777]
Tween 20 (= Polyoxyethylene Sorbitan Monolaurate)	5g / 25g [T2530]
Tween 40 (= Polyoxyethylene Sorbitan Monopalmitate)	5g / 25g [T2531]
Tween 60 (= Polyoxyethylene Sorbitan Monostearate)	5g / 25g [T2532]
Tween 80 (= Polyoxyethylene Sorbitan Monooleate)	5g / 25g [T2533]
Tween 85 (= Polyoxyethylene Sorbitan Trioleate)	5g / 25g [T2534]
n-Octyl-β-D-Glucopyranoside	1g [O0355]

非界面活性型スルホベタイン (NDSB)

非界面活性剤型スルホベタイン (NDSB) は、分子内にカチオンとアニオンを持つ両親媒性の低分子化合物です。界面活性剤とは異なり、疎水性部位が小さいためミセルを形成しません。熱や酸による変性からのタンパク質の保護、タンパク質の凝集防止、タンパク質のリフォールディング促進、膜タンパク質の抽出促進の効果が報告されています。

NDSB 211	1g / 5g [H1399]
NDSB 201	5g / 25g [S0813]
NDSB 256-4T	1g [B4030]

除核酸剤（タンパク質試料澄清化用）

タンパク質の精製において、核酸が粘性を示す事やタンパク質と核酸が複合体を形成しやすいことから除核酸の工程が有効となることがあります。除核酸の方法としては、塩基性水溶性ポリマーに核酸を吸着させる方法、硫酸ストレプトマイシンなどの除核酸剤と核酸を結合させ沈澱させることで分離する方法が用いられています。

Polyethyleneimine (ca. 30% in Water)	25g / 100g [P1921]
Streptomycin Sulfate	5g / 25g [S0834]

電気泳動用試薬

電気泳動法は外部から電場をかけて荷電分子を移動させる方法で、核酸、タンパク質などの分離分析に広く用いられています。Laemmli法に用いられる試薬、タンパク質染色に汎用される試薬およびその他の関連試薬を取り揃えております。

ゲル調製用試薬、緩衝液調製用試薬など

2X SDS-PAGE Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	25mL [B5834]
4X SDS-PAGE Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	20mL [B6104]
6X Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	10mL [B6105]
2X SDS-PAGE Sample Buffer Phenol Red (2-Mercaptoethanol free)	25mL [B6110]
30% Acrylamide / Bis-acrylamide (29:1)	250mL [A3217]
30% Acrylamide / Bis-acrylamide (37.5:1)	250mL [A3218]
Acrylamide Monomer	25g / 500g [A1132]
Ammonium Peroxodisulfate	5g / 25g [A2098]
Bromophenol Blue Sodium Salt (= BPB)	1g [B3195]
DL-Dithiothreitol (= DL-DTT)	1g / 5g [D3647]
Glycerol	1g [G0316]
Glycine	25g / 500g [G0317]
1-Thioglycerol	5g / 25g [T3843]
2-Mercaptoethanol	5g / 25g [M1948]
N,N'-Methylenebisacrylamide	25g / 100g [M0506]
Sodium Dodecyl Sulfate (= SDS)	25g / 500g [S0588]
N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (= TEMED)	5g / 25g [T2515]
Tris(hydroxymethyl)aminomethane (= Tris-Base)	25g / 500g [T2516]

ゲル染色試薬

New Silver Stain Kit [for Electrophoresis]

1kit [I1309]

銀染色は、電気泳動後のポリアクリルアミドゲル中のタンパク質や DNA を高感度に検出する染色方法です。銀イオンがゲル中のタンパク質や DNA に結合し、還元されることで銀染色像が得られます。銀染色はクマシーブリリアントブルー（CBB）染色よりも高感度であり、数 ng のタンパク質を検出することができます。

特長

- 短時間でゲルの染色可能
- 高感度検出
- アンモニウムを含まず無臭
- 爆発性の銀アミドを生じないので安全



使用方法

1. 付属の溶液を 100 倍希釈し、固定液、染色液、現像液、停止液を調製する
2. 固定液を入れたトレーに電気泳動後のゲルを入れ、10 分間振とうさせる
3. 固定液を捨て、脱イオン水を加えて 10 分間振とうさせる (3 回繰り返す)
4. 脱イオン水を捨て、染色液を加えて 5 分間振とうさせる
5. 染色液を捨て、脱イオン水を加えて 30 秒間振とうさせる
6. 脱イオン水を捨て、現像液を加えて 30 秒間振とうさせる
7. 現像液を捨て、新たな現像液を加えて適切な染色像が得られるまで振とうさせる (5 ~ 10 分程度)
8. 現像液を捨て、停止液を加えて 10 分間振とうさせる
9. 停止液を捨て、脱イオン水を加えて 5 分間振とうさせる (3 回繰り返す)

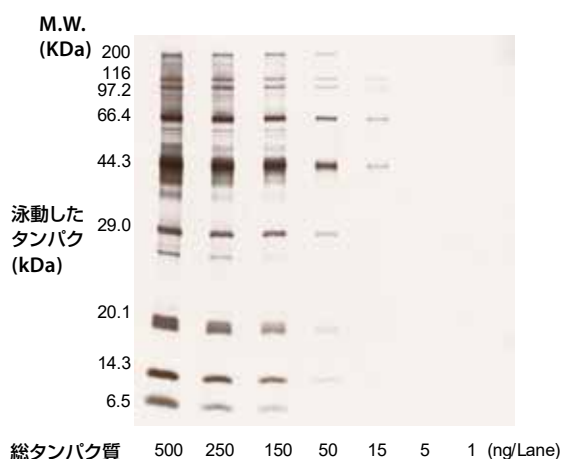


図1. タンパク質を泳動し上記方法で染色したゲル写真

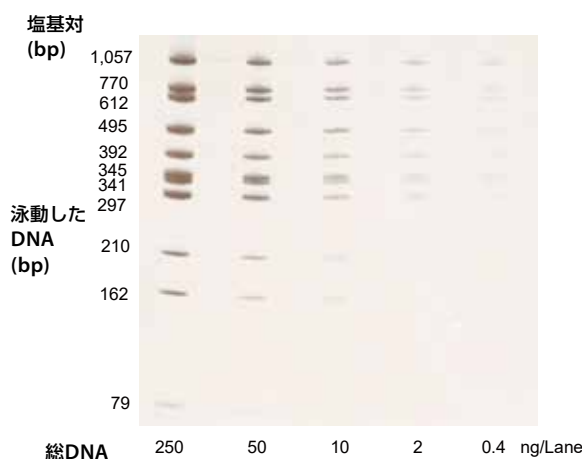


図2. DNAを泳動し上記方法で染色したゲル写真

Gel Negative Stain kit [for Electrophoresis]

1kit [G0615]

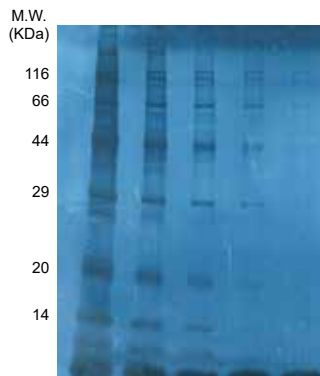
ネガティブ染色はSDS-PAGE後のゲルの染色方法で、タンパク質を含まないゲル領域のみを白く染色し、タンパク質を含む領域は透明のままに染色しません。染色後のゲルは脱染液で簡単に脱染でき、メンブレンに転写することも可能です。

特長

- 短時間(約20分以内)でゲルを染色
- タンパク質の高感度検出
- 脱色後のゲルは他の実験に利用可能
- 1キットでゲル20枚を染色可能
(※90×90×1mmゲルの場合)



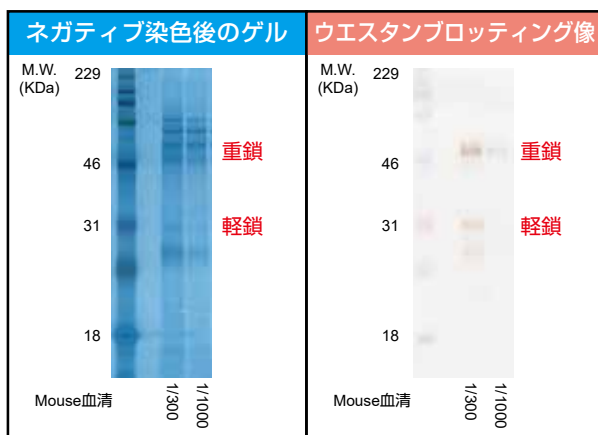
使用方法



総タンパク質 2000 500 125 62 31 (ng/lane)

1. ゲルが浸る程度の脱イオン水を入れたトレーにSDS-PAGE後のゲルを入れ、10分間振とうさせる。
2. 脱イオン水を捨て、脱イオン水で10倍希釈したA液をゲルが浸る程度加え、5分間振とうさせる。
3. A液を捨て、ゲルが浸る程度の脱イオン水を加えて10秒間洗浄する。この操作を3回繰り返す。
4. ゲルを新しいトレーに移し、脱イオン水で10倍希釈したB液をゲルが浸る程度加え1分間振とうさせ、発色させる。

使用方法(ウエスタンブロットングへの応用)



1. 脱イオン水で10倍希釈したC液が入ったトレーに染色・撮影後のゲルを入れる。
2. ゲルの色が抜けるまで振とうさせる。
3. C液を捨て、ゲルが浸る程度の脱イオン水を加えて30秒間洗浄する。この操作を3回繰り返す。
4. 洗浄後のゲルをメンブレン(PVDF)に転写する。

一次抗体: Goat Anti-Mouse IgG Biotin [G0387]

二次抗体: Streptavidin HRP Conjugate [S0972]

発色基質: 3,3'-Diaminobenzidine (DAB)

Coomassie Brilliant Blue G-250 (Ready-to-use Solution) [for Electrophoresis] 500mL [C3488]

特長

- Coomassie Brilliant Blue G-250 が含まれた、電気泳動後のゲル染色溶液
- 一液タイプの Ready-to-use 試薬
- メタノールおよび酢酸は不含

使用方法

1. 電気泳動後のゲルを脱イオン水で5分間洗浄、これを3回繰り返す。
2. 洗浄した水を捨て、C3488をゲルが浸る程度加え、60分間室温で振とうさせる。
3. 染色液を捨て、脱イオン水で60分間洗浄後、観察する。
4. バックグラウンドが高い場合、脱イオン水で一晩洗浄する。

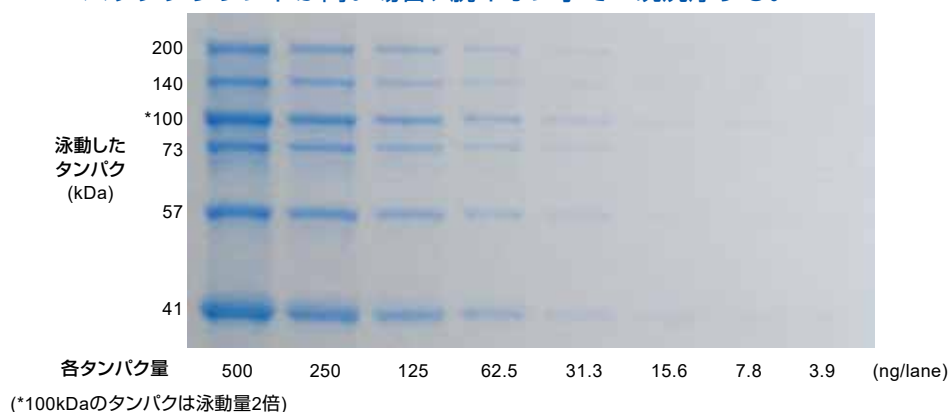


図. 上記の方法でタンパクを電気泳動後に染色した写真(一晩洗浄後)

銀染色、ネガティブ染色、CBB染色の比較

	時間	検出感度	特長
銀染色 [I1309]	約1時間	数ng	高感度検出法として古くから利用され実績豊富。 タンパク質とDNAどちらも検出可能。
ネガティブ染色 [G0615]	15~30分間	数ng	短時間で染色可能。 染色後のゲルはウエスタンブロットなどに利用可能。
CBB染色 [C3488]	2時間~1晩	数μg	操作が簡単。 定量性あり。

タンパク質染色試薬およびその他の関連試薬

Acid Black 1 (= Amido Black 10B)	5g [A2097]
Acid Red 112 (= Ponceau S)	1g / 5g [A2256]
Coomassie Brilliant Blue G-250	5g [B3193]
Coomassie Brilliant Blue R-250	5g [B3194]
Fast Green FCF	5g [F0718]
Sodium Deoxycholate	25g [D1820]
6-Aminohexanoic Acid	5g / 25g [A2255]

ウェスタンブロットング用化学発光試薬

New Chemiluminescence HRP Substrate Solution Kit [for Western Blotting] 1kit [C4087]

Chemiluminescence HRP Substrate Solution [C4087] はメンブレン上のタンパク質と結合した西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) 標識プローブを化学発光で検出する試薬です。2液タイプのため使用直前に1:1で混合して使用します。ピコグラム領域の検出が可能です。

利用例

1. C4087を室温に戻す。
2. ブロットングしたメンブレンにHRP標識された抗体を添加し、その後に洗浄する。
3. Solution AとSolution Bを等量混合する。*メンブレン1 cm²あたり0.1 mLの混合液が目安。
4. メンブレンから余分な洗浄Bufferを除く。
5. メンブレンをラップや透明なポリエチレンのシートの上に乗せる。
6. メンブレンを覆うように混合液をかける。
7. 室温で60秒間静置する。
8. 余分な混合液を除く。
9. 化学発光を検出する。

*シグナルの強さによって露光時間を調節する。

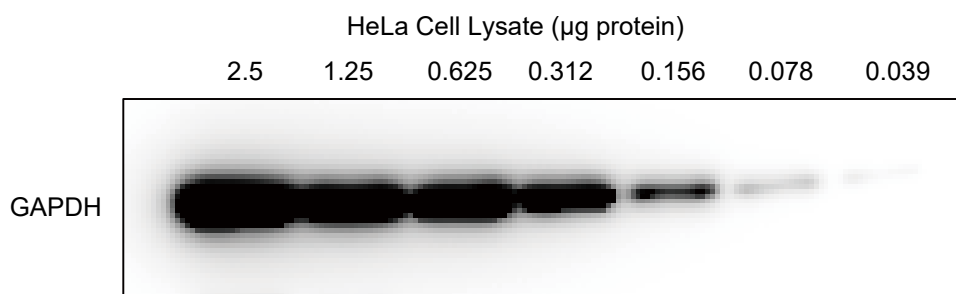


図. C4087 を使用して発光させたメンブレン

HeLa Cell Lysate : 2.5 ~ 0.039 µg/lane (2倍段階希釈液)

メンブレン : PVDF メンブレン

ブロッキングバッファー : 1% BSA/TBS-T

一次抗体 : Anti-GAPDH (Mouse IgG)

二次抗体 : Goat anti-Mouse IgG HRP

検出 : CCD イメージャー

露光時間 : 120 秒

抗体剥離液

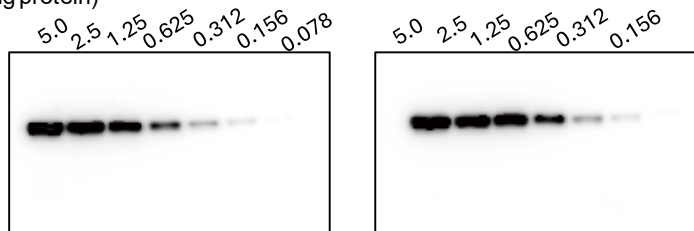
New Western Blot Stripping Buffer [for Biochemical Research]

250mL [W0024]

Western Blot Stripping Buffer [W0024] は化学発光の検出を行ったメンブレンから抗体を剥離する際に使用します。温和な条件で行うことから抗原はメンブレン上に保持されます。これによって異なる抗体を用いて再度化学発光の検出を行うことが可能となります。

利用例

1. HeLa細胞ライセートの2倍段階希釈液 (5.0 – 0.078 $\mu\text{g}/\text{lane}$) を SDS-PAGEにより分離する。
2. ウエスタンブロット後、化学発光試薬を用いて抗体を検出する。(図A)
3. メンブレンをTBS-Tに浸し、10分間振とうさせる。この操作を2回繰り返す。
4. メンブレンをW0024に浸し、30分間室温で振とうさせる。(図B)
5. メンブレンをTBS-Tに浸し、10分間振とうさせる。この操作を3回繰り返す。
6. 再度ブロッキングから始め、新しい抗体を化学発光で検出する。(図C)

HeLa cell lysate
(μg protein)図 A. 1回目の検出。抗 α Tubulin抗体 (Rabbit IgG) を結合させて検出

メンブレン：PVDFメンブレン
 ブロッキングバッファー：1% BSA/TBS-T
 洗浄バッファー：TBS-T
 一次抗体：Anti- α Tubulin (Rabbit IgG)
 二次抗体：Goat anti-Rabbit IgG HRP
 検出：CCDイメージャー
 露光時間：60秒

W0024

他社品

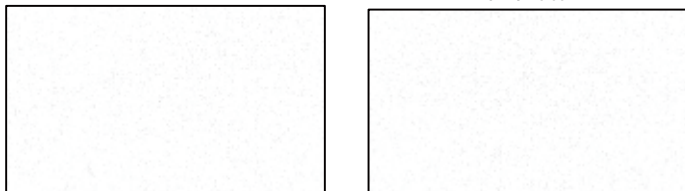


図 B. W0024 または他社のストリッピングバッファーを使用して抗体を剥離

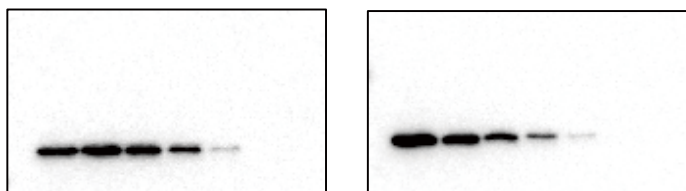


図 C. 2回目の検出。ストリッピングしたメンブレンを再度ブロッキング処理し、抗GAPDH抗体 (Mouse IgG) を結合させて検出

ブロッキングバッファー：1% BSA/TBS-T
 洗浄バッファー：TBS-T
 一次抗体：Anti-GAPDH (Mouse IgG)
 二次抗体：Goat anti-Mouse IgG HRP
 検出：CCDイメージャー
 露光時間：60秒

ウエスタンブロッティング用関連試薬

4-Chloro-1-naphthol (Ready-to-use solution) [for Western blotting]	100mL [C3384]
Nitro Blue Tetrazolium / 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl Phosphate <i>p</i>-Toluidine Salt Solution (50X) [for Western blotting]	5mL [N1113]
TMB [for Western blotting] (Ready-to-use solution)	100mL [T3855]
DAB staining kit	1kit [D5909]
6-Aminohexanoic Acid [for Biochemical Research]	5g / 25g [A2255]
Anti-6xHis Monoclonal Antibody (6A12) HRP Conjugate	1vial [A3075]
Anti-Protein A Chicken Polyclonal Antibody HRP Conjugate	1vial [A3187]
Anti-α Gal Chicken Polyclonal Antibody HRP Conjugate	1vial [A3195]
Goat Anti-Mouse IgG HRP Conjugate	1vial [G0407]
Goat Anti-Mouse IgM HRP Conjugate	1vial [G0417]
Goat Anti-Rabbit IgG HRP Conjugate	1vial [G0418]
Protein A HRP Conjugate	1vial [P2466]
Streptavidin HRP Conjugate	1vial [S0972]
Sheep Anti-Chicken IgY HRP Conjugate	1vial [S0999]
Goat Anti-Mouse IgG FITC Conjugate	1vial [G0406]
Goat Anti-Rabbit IgG FITC Conjugate	1vial [G0452]
Goat Anti-Mouse IgM FITC Conjugate	1vial [G0453]
Goat Anti-Mouse IgG DTBTA-Eu³⁺ Conjugate	1vial [G0505]
Goat Anti-Rabbit IgG DTBTA-Eu³⁺ Conjugate	1vial [G0506]
Goat Anti-Mouse IgG R-PE Conjugate	1vial [G0569]
Goat Anti-Rabbit IgG R-PE Conjugate	1vial [G0577]
Goat Anti-Mouse IgG1 Fab Fragment Cyanine3 Conjugate	1vial [G0598]

核酸染色試薬

Ethidium Bromide (0.5mg/mL in Water) (in Dropper Bottle) [for Electrophoresis] 10mL [E1363]



本製品は一滴に約20 μ gのエチジウムブロミドを含みます。必要量を滴下することで、安全かつ簡便に染色液を任意の濃度に調整できます。

使用方法

1. 電気泳動後、水もしくは泳動バッファー 40mL あたり E1363 を一滴 (終濃度 0.5 μ g/mL) 滴下し、染色液を準備する。
2. 適切な容器に移した染色液とアガロースゲルを浸漬し 15 分間染色する。バックグラウンドが高い場合は水でさらに 15 分間洗浄する。(泳動バッファーおよびゲルにあらかじめ 0.5 μ g/mL となるようエチジウムブロミドを添加しておく、泳動後すぐにバンドの観察ができる。)
3. UV トランスイルミネーターで観察する。

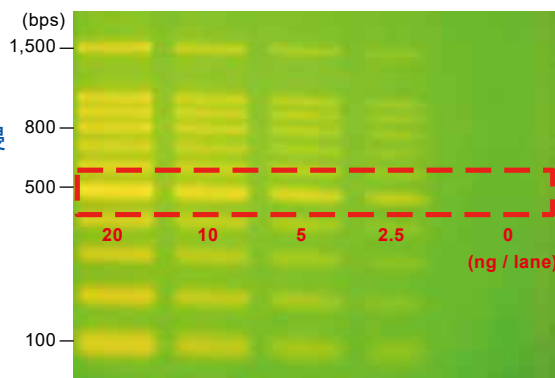


図. DNAラダーマーカーを各濃度で泳動し、上記の方法で染色したアガロースゲル

核酸染色試薬

10X Nucleic Acid Stain Blue [for Electrophoresis]

100mL [N1209]

アガロースゲル電気泳動後の核酸を染色するために使用できます。核酸を青く染色するため、トランスイルミネーター等の検出装置は不要です。エチジウムブロミドとは異なり、非変異原性であるため、安全性が高く取り扱いが容易です。

使用方法



ADNA 200 100 50 25 12.5 (ng/lane)

図. 右記の方法で染色したゲル写真(一晚洗浄後)

1. 脱イオン水で 10 倍希釈した N1209 を用意する。
2. 電気泳動後のゲルを、希釈した N1209 に浸して 10 分間振とうさせる。
3. 染色液を捨て脱イオン水で 30 分間振とうし、ゲルを洗浄バックグラウンドが高い場合は、この操作を繰り返す。

電気泳動用核酸サンプル調製試薬

6X Loading Buffer Bromophenol Blue [for Electrophoresis] [for Molecular Biology]

(1 mL \times 3) 1set [L0393]

6X Loading Buffer Double BX [for Electrophoresis] [for Molecular Biology]

(1 mL \times 3) 1set [L0440]

SH基を有する分子に結合するタンパク質

Bovine Serum Albumin Maleimide Conjugate (1mg×3)	1set [B5944]
Horseradish Peroxidase Maleimide Conjugate (0.5mg×3)	1set [H1621]
Streptavidin Maleimide Conjugate (0.5mg×1)	1vial [T3531]

特長

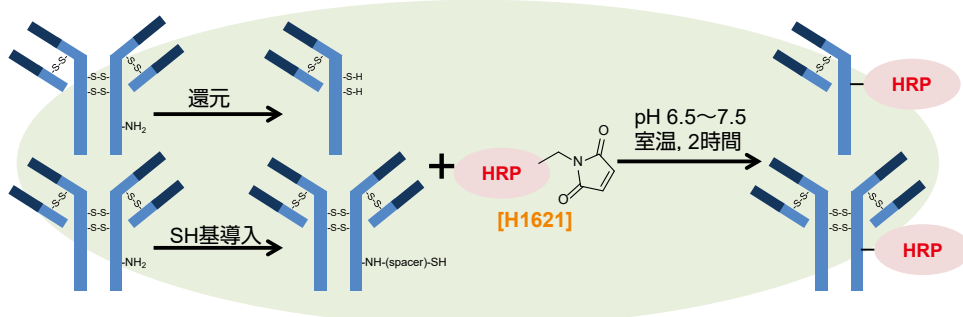
各製品に、あらかじめマレイミド基を導入してあります。

マレイミド基はSH基(スルフヒドリル基、チオール基)と特異的に結合するため、SH基を含むタンパク質やペプチドなどに結合させることができます。

使い切りサイズで小分けしているため、試薬の秤量の手間が省けます。

使用例：H1621を用いた抗体のHRP標識

抗体のような遊離SH基を持たないタンパク質は、DTT **[D3647]**、2-MEA **[A0296]**などの還元剤でジスルフィド結合を還元し、SH基を露出させることができます。SATA **[S0431]**、SATP **[S0859]**、Traut's Reagent **[I0820]**などのSH導入試薬を用いることで第一級アミンにSH基を導入することも可能です。

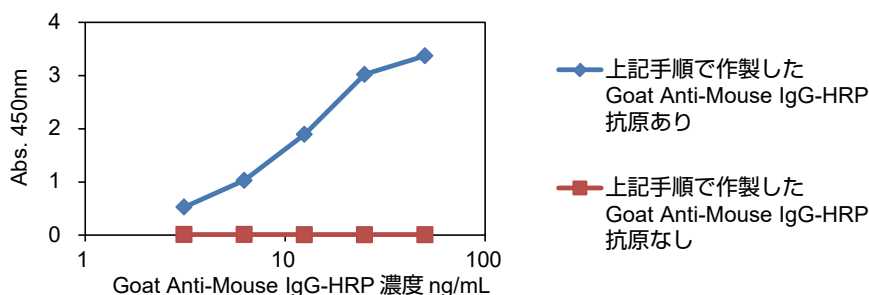


還元した抗体 (Goat Anti-Mouse IgG) を **H1621** と反応させ、HRP 標識した例をご紹介します。反応条件の注意点などについては、弊社ウェブサイトの **H1621** の製品詳細ページをご覧ください。

反応手順

1. 抗体1モル当たりにつき3モルのDTTを加える。
2. 37°Cで90分間、抗体の還元処理を行う。
3. 反応後、ゲルろ過カラムや透析、限外濾過により抗体溶液からDTTを取り除く。
4. 精製した抗体と同じ重量の **H1621** を添加し、室温 (25°C) で2時間反応させる。

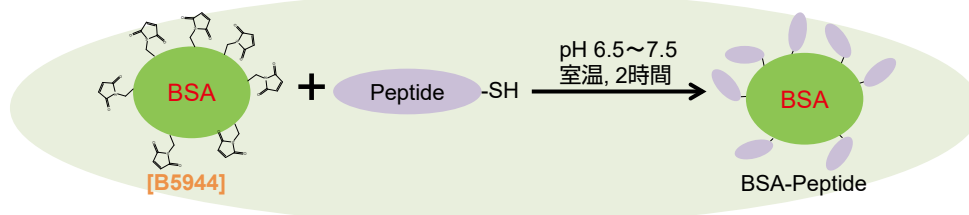
作製したHRP標識化抗体の活性



上記の方法でHRP標識したGoat Anti-Mouse IgGの活性を、Mouse IgGをコートしたELISAにより評価しました。

作製した抗体は5 ng/mL以下の濃度で使用しても、十分にMouse IgGを検出できています。

使用例：B5944を用いたBSA-Peptideの作製

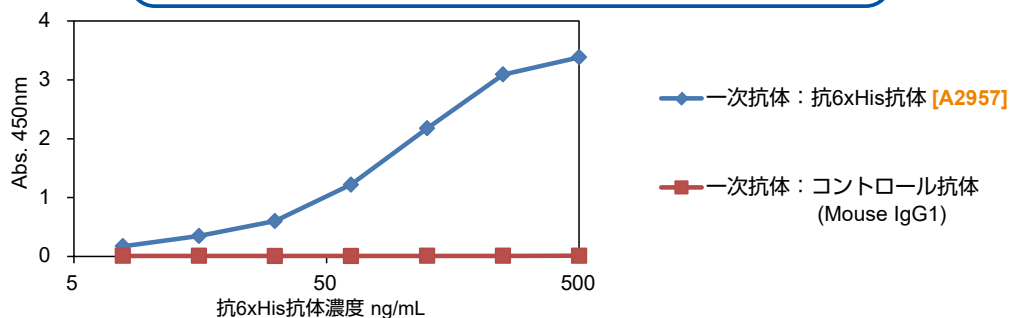


ハプテンと結合させたウシ血清アルブミン(BSA)は、一般的には抗ハプテン抗体の抗原キャリアーとして利用されます。**B5944**に6xHis-Cysペプチドを結合させた例をご紹介します。

反応条件の注意点などについては、弊社ウェブサイトの**B5944**の製品詳細ページをご覧ください。

- 反応手順**
- 0.1M EDTAを含む、0.1M リン酸ナトリウム、0.15M 塩化ナトリウム緩衝液 (pH7.2) を用いて6xHis-Cys ペプチドを溶解させる。
 - B5944**に100 μ Lの超純水を加え溶解させる。
 - 6xHis-Cys ペプチド 1 mg当たり、1 mgの**B5944**を添加し、室温 (25°C) で2時間反応させる。

作製したBSA-6xHisを抗原として使用したELISA



上記の方法で作製したBSA-6xHisを0.1 μ g/wellでコートしたELISAにより、抗6xHis抗体 [A2957]の抗体価を測定しました。

二次抗体にはGoat Anti-Mouse IgG HRP Conjugate [G0407]を使用しています。

関連製品

タンパク質還元試薬

DTT (= DL-Dithiothreitol)	1g / 5g [D3647]
2-MEA (= 2-Aminoethanethiol Hydrochloride)	25g / 100g / 500g [A0296]
2-Mercaptoethanol	5g / 25g [M1948]
Tris(2-carboxyethyl)phosphine Hydrochloride	1g / 5g / 25g [T1656]

チオール基導入試薬

SATA (= N-Succinimidyl S-Acetylthioglycolate)	1g / 5g [S0431]
SATP (= N-Succinimidyl 3-(Acetylthio)propionate)	100mg [S0859]
Traut's Reagent (= 2-Iminoethanol Hydrochloride)	100mg [I0820]

ペルオキシダーゼ (HRP) 標識化試薬

Horseradish Peroxidase Maleimide Conjugate (0.5mg×3)

1set [H1621]

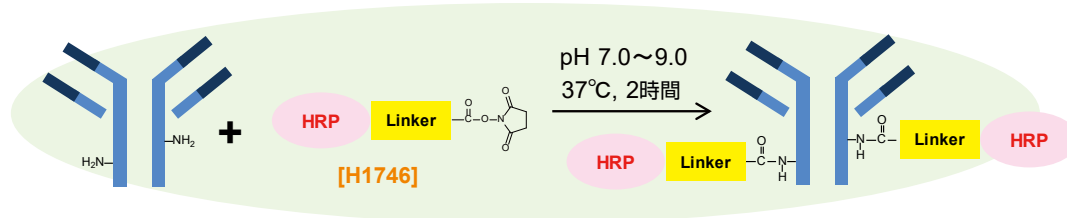
Horseradish Peroxidase NHS Ester Conjugate (0.2mg×3)

1set [H1746]

特長

H1746は西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) に *N*-ヒドロキシスクシンイミジルエステル (NHS) を、H1621はHRPにマレイミド基を導入した試薬です。NHSはアミノ基 (-NH₂) と反応してアミド結合を形成するため、タンパク質などと混合するだけでHRPを結合させることができます。マレイミド基はチオール基 (スルフヒドリル基、SH基) と結合するため、SH基を含むタンパク質などと混合するだけでHRPを結合させることができます。各製品は使い切りサイズで小分けしているため、試薬の秤量の手間が省けます。

使用例：H1746を用いた抗体のHRP標識



抗体 (Goat Anti-Mouse IgG) を H1746 と反応させ、HRP 標識した例をご紹介します。反応条件の注意点などについては、弊社ウェブサイトの H1746 の製品詳細ページをご覧ください。

反応手順

1. 抗体を 0.1M 炭酸ナトリウム緩衝液 pH8.5* に溶解させ、10 mg/mL に調整する。
2. 調製した抗体溶液 20μL を H1746 に加えて混合する。
3. 37°C で 2 時間反応させる。
4. 0.1M Tris-HCl (pH 7.5) を 200 μL 加えて反応を停止させる。
5. 37°C で 1 時間反応させる。

*Tris などのアミノ基を含む緩衝液のご使用は避けてください。

pH7.0 ~ 9.0 の PBS、リン酸緩衝液、炭酸緩衝液、ホウ酸緩衝液などのご使用をお勧めします。

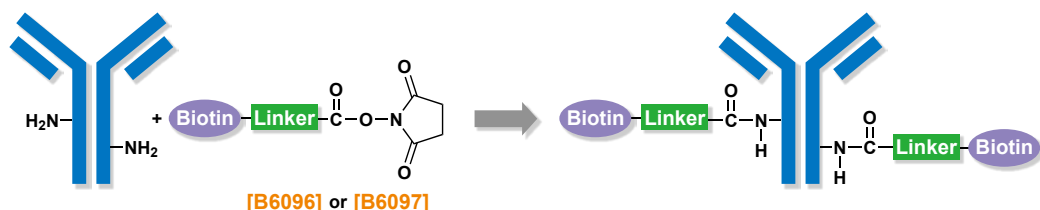
使い切り容量のビオチン化試薬

Biotin-LC-LC-NHS (2mg×5)

1set [B6096]

Biotin-PEG₂-NHS (2mg×5)

1set [B6097]



特長

B6096と**B6097**は、リンカー部位とN-ヒドロキシスクシンイミジルエステル部位(-NHS)を有するビオチン化試薬です。N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル部位はタンパク質中のアミノ基(-NH₂)と反応してアミド結合を形成するため、各製品をタンパク質と混合するだけでビオチン化が可能です。2mg容量のものを5本セットにしていますので、秤量の手間が省け、1本ごとに使い切りできます。

使用手順

使用準備：ご使用には10 mMのビオチン化溶液をおすすめします。

目的サンプルのビオチン化には、その15倍モル量のビオチン化試薬をご使用ください。以下の式で、10 mMビオチン化溶液の量を計算できます。

例：2 mgのIgG (分子量150,000)のビオチン化の場合

$$2 \text{ [mg IgG]} \times 10^{-3} \text{ [g/mg]} \times 1/150,000 \text{ [mol/g]} \times 15 \text{ [倍量]}$$

$$= A \text{ [}\mu\text{L of 10 mM ビオチン化溶液]} \times 10^{-6} \text{ [L/}\mu\text{L]} \times 10 \text{ [mmol/L]} \times 10^{-3} \text{ [mol/mmol]}$$

$$A = 20 \text{ [}\mu\text{L of 10 mM ビオチン化溶液]}$$

- 使用方法：**
1. 各製品を室温に戻す。
 2. 2 mgのBiotin-LC-LC-NHS [B6096]を350 μ LのDMSOまたはDMFに溶解する、もしくは2 mgのBiotin-PEG₂-NHS [B6097]を400 μ LのPBSに溶解し、10 mMのビオチン化溶液を準備する。
 3. 目的のサンプルをPBS等のバッファー(*)に1-10 mg/mLの濃度で溶解する。
 4. 上記で計算した10 mMビオチン化溶液をA μ L加え、30分間室温で反応させる。
 5. 未反応の試薬を脱塩カラム等で、もしくは透析法を用いて取り除く。

*注意：目的のサンプルをバッファーに溶解する際、アミノ基を有するもの(トリスなど)のバッファーのご使用は避けてください。

関連製品

Biotin-LC-LC-NHS	25mg / 100mg [S0956]
Biotin-PEG ₂ -NHS	25mg / 100mg [S0955]
Biotin-PEG ₂ -Maleimide	50mg [B3174]
Streptavidin from <i>Streptomyces avidinii</i>	1mg/vial [S0951]
Streptavidin HRP Conjugate	0.1mg/vial [S0972]
Streptavidin FITC Conjugate	0.1mg/vial [S0966]
Streptavidin DTBTA-Eu ³⁺ Conjugate	0.1mg/vial [S0993]
Streptavidin R-PE Conjugate	0.1mg/vial [T3885]
Streptavidin Maleimide Conjugate	0.5mg/vial [T3531]
HABA	5g / 25g [H0586]
Sulfo-SMCC Sodium Salt	20mg / 100mg [S0883]

タンパク質定量用試薬

生化学分野において、タンパク質の濃度を測定するタンパク質定量は様々な実験を行う際に必要となる手法です。ここではタンパク質定量用試薬として、調製不要でそのままお使いいただける2種類のReady-to-use 溶液をご紹介します。

ピロガロールレッド法

Pyrogallol Red (Ready-to-use Solution) [for Protein determination]

100mL [P2575]

P2575 はピロガロールレッド法によってタンパク質定量を行う調製済み溶液です。480 nm に極大吸収波長を持つピロガロールレッド・モリブデン錯体はタンパク質と結合することで極大波長が 600 nm にシフトします。600 nm の吸光度を測定することでサンプル中のタンパク質の濃度を定量することが可能です。セルへの汚染が少なく、水洗だけで洗浄することができます。また、ブラッドフォード法よりもタンパク質による吸光度の差が生じにくいとされています。

使用方法

- BSA 標準液の希釈系列を作成する。
- P2575** と測定したい試料、BSA 標準液、蒸留水をそれぞれ表 1 の割合で混合する。
- 室温で 30 分間静置して反応させる。
- 反応させた溶液の 600 nm の吸光度を測定する。
- BSA 標準液の 600 nm の吸光度の値から蒸留水の値を引いて検量線を作成し、試料中のタンパク質の量を算出する。

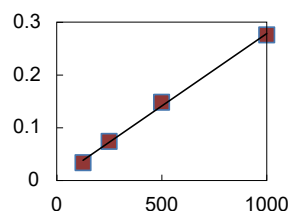
表1：試験管法とマイクロプレート法の必要量

	試験管法	マイクロプレート法
定量範囲	0.1 - 1.0 mg/mL	0.1 - 1.0 mg/mL
測定試料、BSA標準液	50 μ L	10 μ L
P2575	1 mL	200 μ L

BSA標準液はお客様でご準備をお願いいたします。

使用例：マイクロプレート法で実施

- BSA 標準液の 2 倍希釈系列を 1000 μ g/mL から計 4 種類作成する。
- P2575** 200 μ L と BSA 標準液、蒸留水、試料 10 μ L を混合する。
- 室温で 30 分間反応後、600 nm の吸光度を測定し、検量線を作成する。



BSA標準液の希釈系列
 ⇒ 対照区(蒸留水)
 ⇒ 測定したい試料

P2575の共存物質の影響

下記の表は、試料中に含まれていても測定結果に影響がないことを確認した物質と濃度です。

Buffers		Chelating Agents		Solvents		Salts	
物質名	濃度	物質名	濃度	物質名	濃度	物質名	濃度
Glycine	100 mM	EDTA	100 mM	Acetone	10 %	(NH ₄) ₂ SO ₄	1 M
Tris	2 M	EGTA	10 mM	DMSO	10 %	KCl	1 M
HCl	200 mM	Sodium citrate	200 mM	Ethanol	10 %	MgCl ₂	50 mM
HEPES	100 mM			Methanol	10 %	CaCl ₂	10 mM
MES	100 mM	Detergents		Glycerol	10 %	NiCl ₂	10 mM
MOPS	100 mM	物質名	濃度			ZnCl ₂	10 mM
PIPES	100 mM	SDS	0.10 %	Denaturants		NaCl	2 M
Tricine	100 mM	Triton X-100	0.10 %	物質名	濃度	NaOH	100 mM
Imidazole	200 mM	Tween-20	0.10 %	DTT	100 mM	NaH ₂ PO ₄	500 mM
Glucose	1 M			Glutathione	1 mg/mL	NaN ₃	0.50 %
Sucrose	25 %			2-Mercaptoethanol	1 M		
Fructose	1 M			Guanidine-HCl	1 M		
				Urea	3 M		

ブラッドフォード法

Bradford Assay Solution (Ready-to-use Solution) [for Protein determination] 500mL [B5702]

B5702 はブラッドフォード法によってタンパク質量を行う調製済み溶液です。465nm に極大吸収波長を持つ Coomassie Brilliant Blue G-250 はタンパク質と結合することで極大波長が595nmにシフトします。595nmの吸光度を測定することでサンプル中のタンパク質の濃度を定量することができます。タンパク質との反応開始後5分で吸光度が測定可能です。また、マイクロアッセイ法により、タンパク質の濃度がより小さい範囲でも測定することができます。

使用方法

1. BSA 標準液の希釈系列を作成する。
2. **B5702** と測定したい試料、BSA 標準液、蒸留水をそれぞれ表2の割合で混合する。
3. 室温で5分間静置して反応させる。
4. 反応させた溶液の595 nmの吸光度を測定する。
5. BSA 標準液の595 nmの吸光度の値から蒸留水の値を引いて検量線を作成し、試料中のタンパク質の量を算出する。

表2：試験管法とマイクロプレート法の必要量

	試験管法	マイクロプレート法	マイクロアッセイ法
定量範囲	0.1 - 1.0 mg/mL	0.1 - 1.0 mg/mL	1.0 - 25 µg/mL
測定試料、BSA標準液	20 µL	4 µL	500 µL
B5702	1 mL	200 µL	500 µL

BSA標準液はお客様でご準備をお願いいたします。

B5702の共存物質の影響

下記の表は、試料中に含まれていても測定結果に影響がないことを確認した物質と濃度です。

Buffers		Salts		Solvents		Denaturants	
物質名	濃度	物質名	濃度	物質名	濃度	物質名	濃度
Glycine	100 mM	(NH ₄) ₂ SO ₄	1 M	Acetone	10 %	DTT	100 mM
Tris	2 M	KCl	1 M	DMSO	10 %	Glutathione	1 mg/mL
HCl	100 mM	MgCl ₂	50 mM	Ethanol	10 %	2-Mercaptoethanol	1 M
HEPES	100 mM	CaCl ₂	10 mM	Methanol	10 %	Guanidine-HCl	1 M
MES	100 mM	NiCl ₂	10 mM	Glycerol	10 %	Urea	3 M
MOPS	100 mM	ZnCl ₂	10 mM				
PIPES	100 mM	NaCl	2 M	Detergents		Chelating Agents	
Glucose	1 M	NaOH	100 mM	物質名	濃度	物質名	濃度
Sucrose	25 %	NaH ₂ PO ₄	500 mM	SDS	0.05 %	EDTA	100 mM
Fructose	1 M	NaN ₃	0.50 %	Triton X-100	0.10 %	EGTA	10 mM
				Tween-20	0.10 %	Sodium citrate	200 mM

P2575、**B5702** には以下の 2 mg/mL BSA 標準液を併せてご使用ください。

関連製品

Standard Solution of Albumin from Bovine Serum

5mL [T3796]

ビスコニン酸 (BCA) 法

Bicinchoninic Acid Disodium Salt [for Protein Research]

5g [B5838]

核 / 細胞質分画試薬

Nuclear / Cytoplasmic Fractionation Kit

1kit [N1208]

N1208は、哺乳類細胞の細胞質タンパク質と核タンパク質を簡便に分離するためのキット製品です。付属の3種類の試薬を用いて各画分を迅速に回収することができます。抽出したタンパク質はそのままウェスタンブロットなどの解析に利用可能です。

キット内容物

- 1X Cytoplasmic Extraction Buffer 約50検体分
- 20X Detergent Solution 約50検体分
- 1X Nuclear Extraction Buffer 約50検体分

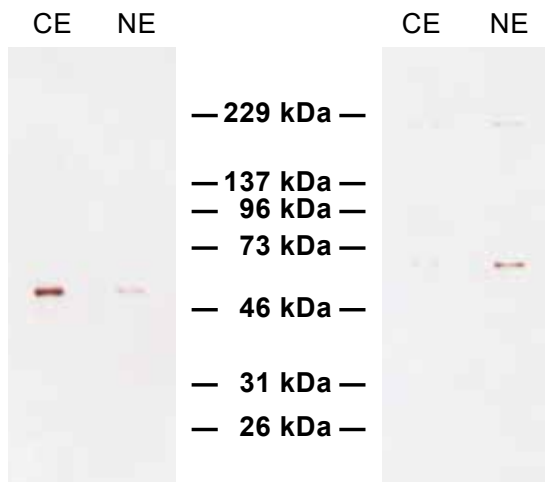
利用例

<細胞質抽出>

1. 細胞を回収し、氷冷したPBSで2回洗浄する。セルスクレイパーを用いて接着細胞を剥離する。
2. 氷冷した1X Cytoplasmic Extraction Bufferに細胞を懸濁する。細胞容積100 μL (約 1×10^7 cells)あたりバッファーを400 μL加える。
3. 氷上で10分間静置する。
4. 懸濁液に氷冷した20X Detergent Solutionを加え、10秒間ボルテックスで混合する。懸濁液500 μLあたり溶液を25 μL使用する。
5. 800 xg, 4 °Cで10分間遠心分離し、上清(細胞質画分)を回収する。

<核抽出>

6. ペレットを氷冷した1X Nuclear Extraction Bufferに懸濁する。ペレット容積100 μLあたりバッファーを100 μL加える。
7. 氷上で20分間静置する。5分おきにボルテックスで混合する。
8. 15,000 xg, 4 °Cで10分間遠心分離し、上清(核画分)を回収する。
9. 抽出した各画分のタンパク質を下流の実験に用いる。



N1208を用いて抽出した細胞質画分(CE)と核画分(NE)のウェスタンブロット例。抗 α -Tubulin抗体(左)と抗Lamin B1抗体(右)を用いて検出。両者を分画して抽出可能。

細胞用抽出試薬

RIPA Buffer (Ready-to-use) [for Protein extraction]

100mL [R0246]

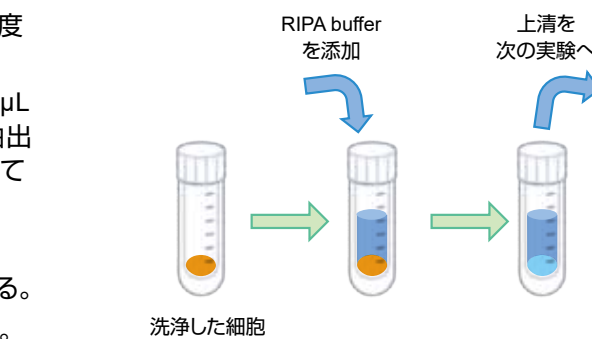
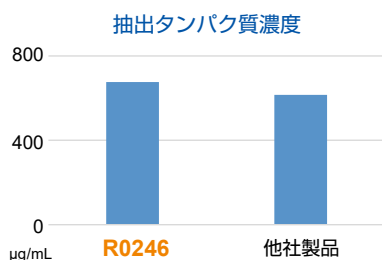
RIPA buffer [R0246] は、哺乳類培養細胞からタンパク質を抽出する際に使用します。培養した哺乳類細胞を本製品に溶解するだけでタンパク質が抽出でき、抽出されたタンパク質はそのままウェスタンブロットなどのアプリケーションに使用することができます。本製品にはプロテアーゼ阻害剤は含まれておりません。

利用例

RIPA Buffer [R0246] に以下のプロテアーゼ阻害剤を混合する(濃度は終濃度)。

ロイペプチン	10 µg/mL
ペプスタチンA	1 µg/mL
アプロチニン	3 µg/mL
AEBSF	1 mM

1. 培養したマウス骨髄腫由来細胞 sp2/0 を PBS にて 2 度洗浄し上清を吸引する。
2. プロテアーゼ阻害剤入り RIPA Buffer [R0246] 200 µL と、同じプロテアーゼ阻害剤入り他社タンパク質抽出試薬 200 µL にそれぞれ細胞を 1.0×10^6 ずつ添加して氷上で 15 分間静置する。
3. 10,000 x g、4°C、10 分間遠心分離する。
4. 上清を抜き取り、上清中のタンパク質濃度を測定する。
5. 抽出した上清をそのままウェスタンブロットに用いる。



抽出したタンパク質を電気泳動後、PVDF膜に転写。anti-β actin抗体を用いて検出。他社製品と同等以上の検出が可能。

関連製品

Nervous Tissue Protein Extraction Buffer
Mitochondrial Isolation Kit
E.coli / Yeast Protein Extraction Buffer

100mL [B6279]

1kit [M3527]

100mL [Y0021]

東京化成工業株式会社

試薬製品について

■本社営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
Tel: 03-3668-0489 Fax: 03-3668-0520 E-mail: Sales-JP@TCIchemicals.com

■大阪営業部 〒541-0041 大阪府大阪市中央区北浜1-1-21 第2中井ビル1階
Tel: 06-6228-1155 Fax: 06-6228-1158 E-mail: osaka-s@TCIchemicals.com

スケールアップ、受託サービス(合成・開発・製造)について

□化成営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
Tel: 03-5651-5171 Fax: 03-5640-8021 E-mail: finechemicals@TCIchemicals.com

弊社製品取扱店

本誌掲載の化学品は試験・研究用のみ使用するものです。化学知識のある専門家以外の方のご使用はお避けください。品目や製品情報等、掲載内容の変更を予告なく行う場合があります。内容の一部または全部の無断転載・複製はご遠慮ください。