

MERCK

メルク ウェスタンブロッティング カタログ



Novagen® CHEMICON® upstate®
Roche® Calbiochem®

The life science business
of Merck operates as
MilliporeSigma in the
U.S. and Canada.

Millipore®

Preparation, Separation,
Filtration & Testing Products

ブロッティング技術は、1975年にE. M. Southernがアガロースゲルから核酸を転写させるサザンブロッティングにニトロセルロース製のメンブレンを使ったのがはじまりです。

メルクは、1985年に世界で初めてウェスタンブロッティング用PVDF製のトランスファーメンブレンImmobilon-Pの販売を開始しました。1988年にはシークエンシング用のImmobilon-PSQや蛍光検出用のImmobilon-FLなど、お客様のニーズや時代をリードする製品を続けて上市し、研究者の皆様の期待に応えてまいりました。

トランスファーメンブレンImmobilonに加え、幅広いタンパク質研究に欠かせない高品質の製品と技術を提供し続けるメルクは、トランスファーメンブレンのリーディングサプライヤーです。



目次



タンパク質の分離

• プレキャストゲル

TruPAGE

• マーカー

分子量マーカー
Perfect Protein

3

SDS-PAGE や等電点電気泳動、二次元電気泳動で分子量、等電点などでタンパク質を分離します。



転写

• PVDF 製トランスファーメンブレン

Immobilon-P
Immobilon-PSQ
Immobilon-FL
Immobilon-E
Immobilon NOW

4

分離したゲルの中のタンパク質を電氣的にブロッティング膜に移動・固定化します。



抗体反応

• ワンステップ静置型ウェスタンブロット免疫反応

Immobilon GO

• 吸引式免疫反応システム

SNAP i.d. 2.0

• ブロッキング剤

bløk
BLOT-QuickBlocker
ChemiBLOCKER
Immunoblot Blocking Reagent
Albumin
SeaBlock, Salmon Plasma

• 一次抗体

タグ抗体
ZooMAbリコンビナント・モノクローナル抗体
リン酸化検出抗体

• 二次抗体

• プロテアーゼ阻害剤カクテル

cOplete プロテアーゼインヒビター
カクテル錠

• 抗体反応促進剤

Immobilon Signal Enhancer

8

目的のタンパク質と抗原抗体反応をさせます。



検出

• 化学発光試薬

Immobilon ウェスタン検出試薬
Immobilon ECL Ultra ウェスタン検出試薬
Immobilon

• 発色試薬

HRP 基質
AP 基質

20

目的のタンパク質を検出します。

いまさら聞けないウェスタンブロッティングの基礎知識

22

プレキャストゲル

SDS-PAGE 用プレキャストゲル **TruPAGE**

TruPAGE 特長

- 耐久性に優れ、通常の実験操作では壊れません
- 有効期間が長く、製造後 2 年経過してもシャープなバンドが検出可能です
- 互換性に優れ、バイオラッド社、サーモフィッシャー社などの電気泳動層でご使用いただけます



(詳細はお問い合わせください)

ご注文情報 ローディング量は 12 ウェルは 35 μ L、17 ウェルは 20 μ L です。

均一ゲル

サイズ	ウェル数	ゲル濃度	包装単位	カタログ番号
10 x 10 cm	12	10%	10 枚	PCG2001-10EA
10 x 10 cm	12	12%	10 枚	PCG2002-10EA
10 x 10 cm	17	10%	10 枚	PCG2005-10EA
10 x 10 cm	17	12%	10 枚	PCG2006-10EA
10 x 8 cm	12	10%	10 枚	PCG2009-10EA
10 x 8 cm	12	12%	10 枚	PCG2010-10EA
10 x 8 cm	17	10%	10 枚	PCG2013-10EA
10 x 8 cm	17	12%	10 枚	PCG2014-10EA

グラジエントゲル

サイズ	ウェル数	ゲル濃度	包装単位	カタログ番号
10 x 10 cm	12	4-12%	10 枚	PCG2003-10EA
10 x 10 cm	12	4-20%	10 枚	PCG2004-10EA
10 x 10 cm	17	4-12%	10 枚	PCG2007-10EA
10 x 10 cm	17	4-20%	10 枚	PCG2008-10EA
10 x 8 cm	12	4-12%	10 枚	PCG2011-10EA
10 x 8 cm	12	4-20%	10 枚	PCG2012-10EA
10 x 8 cm	17	4-12%	10 枚	PCG2015-10EA
10 x 8 cm	17	4-20%	10 枚	PCG2016-10EA

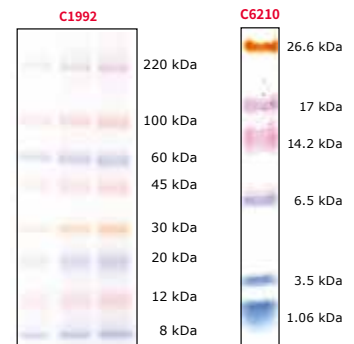
マーカー

タンパク質の電気泳動用試薬 **分子量マーカー**

電気泳動に欠かせない分子量マーカーやよく使用される試薬、便利な調製済みの染色液をラインアップ。

ご注文情報

製品名	製品情報	包装単位	カタログ番号
着色済み分子量マーカー 広範囲 ColorBurst™	8,000-220,000 Da Tris-グリシンまたは	50 回分	C1992-1VL
	Tris-トリシン SDS-PAGE 用	50 回分 × 5 本	C1992-5X1VL
着色済み分子量マーカー 超低分子量	1,060-26,600 Da Tris-トリシン SDS-PAGE 用	20 回分	C6210-1VL
		20 回分 × 5 本	C6210-5X1VL
分子量マーカー 低分子領域 SigmaMarker™	6,500-66,000 Da	20 回分 × 10 本	M3913-10VL
分子量マーカーキット 未変性用	14,000-500,000 Da	5 種類のタンパク質 各 1mg	MWND500-1KT



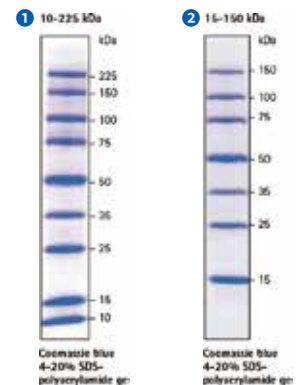
タンパク質サイズマーカー

Perfect Protein™

Novagen

ご注文情報

製品名	製品情報	包装単位	カタログ番号
Perfect Protein Markers, 10-255 kDa ①	CBB 染色用に最適化された 正確なサイズマーカー	100 回分	69079-3
Perfect Protein Markers, 15-150 kDa ②			69149-3



販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。
ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

【製品の技術的なお問い合わせ（テクニカルサービス）】 <メルク製品> TEL: 03-4531-1140 FAX: 03-5434-4859 Email: jpts@merckgroup.com
<シグマ製品> TEL: 03-6756-8245 FAX: 03-6756-8302 Email: jpts@merckgroup.com

メンブレンへの転写は、ウェスタンブロットングにおいてとても重要なプロセスです。

時間をかけて抽出・精製した貴重な目的タンパク質をトランスファーメンブレン上に効率よく転写させることで、シグナル-ノイズ (S/N) 比の改善につながりやすいことが知られています。

1975年、E. M. Southern がニトロセルロース製メンブレンを用いてサザンブロットングを開発しました。この解析法は簡便かつ効果的な方法として多くの研究者に受け入れられ、後にノーザンブロットングやウェスタンブロットングが開発された際にもニトロセルロースメンブレンが用いられてきました。

しかし、ニトロセルロースメンブレンは強度とタンパク質の保持力が弱く、反応条件の制限や感度の問題から、物理強度や薬品耐性に優れた PVDF (Polyvinylidene difluoride) ポリマーを素材としたブロットングメンブレンが開発されました。

タンパク質のメンブレンへの吸着は、疎水相互作用や静電的相互作用に基づきます。そのため、ニトロセルロースと比べて疎水性の高い PVDF では、疎水性相互作用が強く働くため、より多くのタンパク質を効率よく保持することが可能です。保持力に加えて吸着容量が大きく物理的強度も高いことから、現在ウェスタンブロットングには PVDF メンブレンが多く用いられています。

PVDF 製トランスファーメンブレン

Immobilon[®] シリーズ

Immobilon Transfer Membrane シリーズは、メルクの品質の高いトランスファーメンブレンのブランドとして、世界中で多くの研究者にお使いいただいております。

メルクはウェスタンブロットング用 PVDF 製メンブレンとして 3 種類の製品を提供しており、目的のアプリケーションに適した製品を選択いただけます。



	Immobilon-P (5 ページ)	Immobilon-PS ^Q (5 ページ)	Immobilon-FL (6 ページ)
特長	様々なゲルマトリクスからの転写に適したメンブレン	緻密な孔構造による 20 kDa 以下の低分子タンパク質の吸着に優れたメンブレン	蛍光検出のために開発された自家蛍光の低いメンブレン
材質	疎水性 PVDF	疎水性 PVDF	疎水性 PVDF
孔径	0.45 μm	0.2 μm	0.45 μm
アプリケーション	ウェスタンブロットング バインディングアッセイ アミノ酸解析 エドマン分解 マスペクトロメトリー ドットブロットング スロットブロットング	ウェスタンブロットング アミノ酸解析 エドマン分解 マスペクトロメトリー	ウェスタンブロットング ドットブロットング スロットブロットング
検出	発色 化学発光 放射性同位体	発色 化学発光 放射性同位体	蛍光 発色 化学発光
タンパク質結合量例	Insulin: 160 μg/cm ² BSA: 215 μg/cm ² Goat IgG: 294 μg/cm ²	Insulin: 262 μg/cm ² BSA: 340 μg/cm ² Goat IgG: 448 μg/cm ²	Insulin: 155 μg/cm ² BSA: 205 μg/cm ² Goat IgG: 300 μg/cm ²

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

ウェスタンブロットティングのスタンダード

Immobilon®-P

ウェスタンブロットティング用に開発され、世界中で最も良く使われている孔径 0.45 μm の PVDF 製トランスファーメンブレンです。タンパク質に対する強い吸着力および保持力により、高い感度を実現します。一般的に 20 kDa 以上のタンパク質のプロットングに適しています。

カット済みの Immobilon-P メンブレン 1 枚を同じサイズのプロットング用紙 2 枚で挟んだ、プロットングサンドイッチも便利です。



仔ウシ肝臓タンパク質を Immobilon-P に転写し、各検出方法で可視化しました。Immobilon-P はいずれの染色方法にも適合していることがわかります。

各プロットとも左のレーンから順に、分子量マーカー、組織溶解液 12.2 μg、6.1 μg、3.1 μg です。

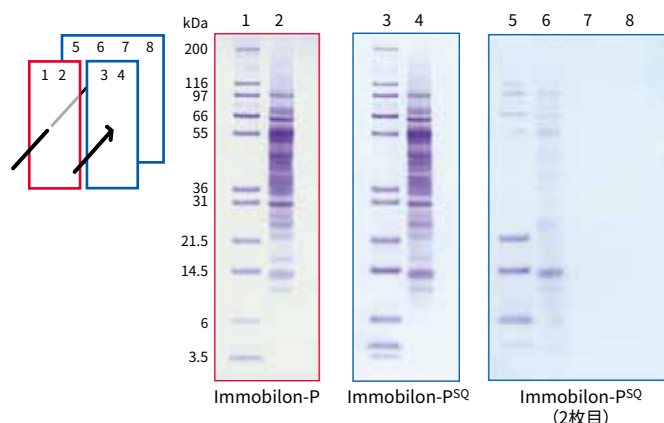
ご注文情報

製品名	サイズ	孔径	包装単位	カタログ番号
Immobilon-P ロール	26.5 × 375 cm	0.45 μm	1	IPVH00010
Immobilon-P シート	7 × 8.4 cm	0.45 μm	50	IPVH07850
	8 × 10 cm	0.45 μm	10	IPVH08100
	8 × 13.5 cm	0.45 μm	10	IPVH08130
	9 × 12 cm	0.45 μm	10	IPVH09120
	10 × 10 cm	0.45 μm	10	IPVH10100
	15 × 15 cm	0.45 μm	10	IPVH15150
	20 × 20 cm	0.45 μm	10	IPVH20200
	26 × 26 cm	0.45 μm	10	IPVH304F0
Immobilon-P プロットングサンドイッチ	7 × 8.4 cm	0.45 μm	20 セット	IPSN07852
	8.5 × 13.5 cm	0.45 μm	20 セット	IPSN08132

低分子量タンパク質にお勧め

Immobilon®-P^{SQ}

低分子量タンパク質の検出に適した、孔径 0.2 μm の PVDF 製トランスファーメンブレンです。内部面積が大きいので、Immobilon-P に比べてタンパク質の吸着容量が多く、20 kDa 以下のタンパク質のプロットングに適しています。



Immobilon-P (レーン 1, 2) および Immobilon-P^{SQ} (レーン 3, 4) に Immobilon-P^{SQ} (レーン 5-8) を重ねて転写を行いました (上模式図参照ください)。転写後のプロットを CBB 染色すると、レーン 5 と 6 では Immobilon-P を通り抜けたタンパク質が検出されるのに対して、レーン 7 と 8 ではタンパク質はほとんど検出されません。これは、ほぼすべてのタンパク質が 1 枚目の Immobilon-P^{SQ} に吸着されていることを示しています。この現象は、低分子量タンパク質において特に顕著にみられます。

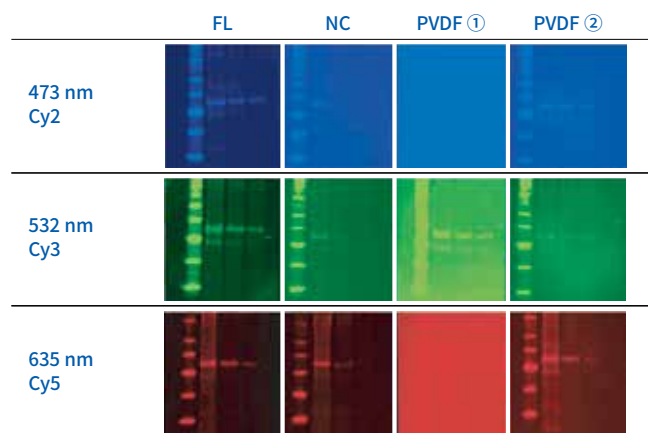
ご注文情報

製品名	サイズ	孔径	包装単位	カタログ番号
Immobilon-P ^{SQ} ロール	26.5 × 375 cm	0.2 μm	1	ISEQ00010
Immobilon-P ^{SQ} シート	8 × 10 cm	0.2 μm	10	ISEQ08100
	8.5 × 13.5 cm	0.2 μm	10	ISEQ08130
	10 × 10 cm	0.2 μm	10	ISEQ10100
	15 × 15 cm	0.2 μm	10	ISEQ15150
	20 × 20 cm	0.2 μm	10	ISEQ20200
	26 × 26 cm	0.2 μm	10	ISEQ26260

バリデーション済み蛍光検出用トランスファーメンブレン

Immobilon®-FL

蛍光検出用として開発された 0.45 μm の PVDF 製トランスファーメンブレンです。自家蛍光が極めて低いことが特長です。幅広い励起波長および蛍光波長の使用に適合し、複数の蛍光標識を同時に検出する系に適しています。蛍光検出以外の検出にも使用できます。



Immobilon-FL の性能例

Immobilon-FL (FL)、他社製ニトロセルロースメンブレン (NC)、他社製 PVDF メンブレン 2 種類 (PVDF ①および PVDF ②) を用いて蛍光検出を行い、結果を比較しました。

ご注文情報

製品名	サイズ	孔径	包装単位	カタログ番号
Immobilon-FL ロール	26.5 × 375	0.45	1	IPFL00010
Immobilon-FL シート	7 × 8.4	0.45	10	IPFL07810
	10 × 10	0.45	10	IPFL10100
	20 × 20	0.45	10	IPFL20200

ミリポアブランドの電気泳動用パワーサプライ



mA700 高性能パワーサプライ

- 高出力
- 30 プログラム保存可能 (6 ステップまで設定可能)
- 操作性に優れたカラーディスプレイ

mA400 コンパクトパワーサプライ

- 2 つの泳動槽に同時供給可能
- タイマー制御と 2 ステップまでの設定可能
- コンパクト

ご注文情報

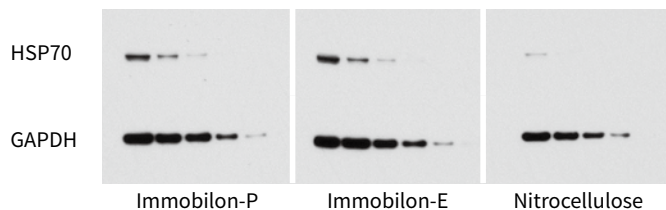
製品名	カタログ番号
mA700 Essential Power Supply	MA700-NI
mA400 Basic Power Supply	MA400-NI

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。



プレウエット不要の新しい PVDF トランスファーメンブレン Immobilon® -E

イモビロン -E は PVDF メンブレンの特長である高いタンパク質の吸着力と物理的強度はそのままに、アルコールによる親水化処理が不要な製品です。PVDF 膜だけでなくニトロセルロースをお使いの方も、ぜひ一度お試しください。



ご注文情報

形状	サイズ	包装単位	カタログ番号
カット	7.0 × 8.4 cm	4	IEVH07804
	7.0 × 8.4 cm	50	IEVH07850
	8.0 × 10 cm	10	IEVH08100
	9.0 × 12 cm	10	IEVH09120
	10 × 10 cm	10	IEVH10100
サンドウィッチ	7.0 × 8.4 cm	20	IESN07852
	8.5 × 13.5 cm	20	IESN08132



メンブレンのカットにもう定規はいりません Immobilon® NOW

メンブレンをカットする際に長さや幅を測って切って・・・。
そんな手間を軽減する専用ディスペンサーとロールができました。
Mini と Midi サイズに対応したロールは切れ端の無駄も出ません。
ミリポアブランドの明るい色のディスペンサーは、いつものウェスタン
プロットイングをちょっと手軽に、ちょっと楽しくしてくれる製品です。



ご注文情報

形状	カタログ番号
Immobilon NOW ディスペンサー	IMDISP
Immobilon-E メンブレン、8.5 cm × 10 m ロール	IEVH85R
Immobilon-P メンブレン、8.5 cm × 10 m ロール	IPVH85R
Immobilon-FL メンブレン、8.5 cm × 10 m ロール	IPFL85R
Immobilon-P ⁵⁰ メンブレン、8.5 cm × 10 m ロール	ISEQ85R

1 ロール当たり 144 枚のミニプロットとしてご使用いただけます。

抗体反応

ウェスタンブロットングでの免疫反応は、一次抗体・二次抗体の濃度、使用するバッファーやブロッキング剤など、様々な条件によって結果が左右されます。新規サンプルや抗体などを用いた際の最適条件検討は、多くの方が抱える共通の悩みではないでしょうか。

あなたはどっち派？ ウェスタンブロットング工程を大幅に短縮する2つの優れもの



ワンステップ静置型 ウェスタンブロット免疫反応

Immobilon® GO

まとまった実験時間を確保することが難しい
マルチタスクなあなたにおススメ

ウェスタンブロットングにおける免疫反応には通常4時間以上かかりますが、待ち時間の他にも手動で行う作業が頻繁にあります。Immobilon GOはこれらの面倒な手作業をなくし、作業全体を簡略化します。

Immobilon GO デバイスに、プロット、ブロッキングバッファー、洗浄バッファー、抗体溶液をセットするだけで、その後の作業から解放され、他の仕事に集中できます。

特長 ● ワンステップの免疫反応

プロットをセットして、ブロッキングバッファー、洗浄バッファー、抗体溶液を充填し、3時間後（または翌朝）に検出工程に移るだけの簡単操作。

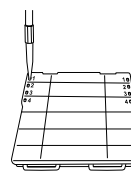
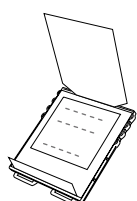
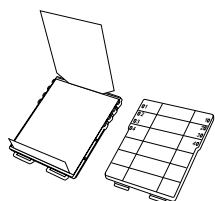
● 使いやすいオープンデバイス

専用試薬不要。標準的なバッファーと普段お使いの抗体、検出試薬をご使用いただけます。

● 便利なディスプレイデバイス

複数の試験を平行して実施できます。

使用方法 ※ 詳細な手順はユーザーガイドをご参照ください。



① Immobilon GO デバイスを開く

② プロットしたメンブレンをタンパク質側を上面にして置く

③ ローラーで密着させる

④ フタを元に戻し、試薬充填ポートからバッファー、抗体を添加する

⑤ 室温で3時間以上インキュベート

〈お客様にご準備いただくもの〉

無脂乾燥スキムミルク(NFDM) / Tris 緩衝生理食塩水に溶解した Tween™ 20 界面活性剤 / プロットローラー / ピンセット / インキュベーション用トレイ / 一次抗体と二次抗体



免疫反応に影響を及ぼす原因となるのは、ブロッキング剤や抗体の濃度、バッファー、検出試薬やインキュベーション時間など多岐にわたります。

Immobilon GO vs SNAP i.d.2.0



デモ機あります



結果を見てから次の実験に進みたい。反応待ちの時間を短縮できたらいいなあ。

吸引式免疫反応システム

SNAP i.d.™ 2.0

短時間でどんどん結果を出したい
アグレッシブなあなたにおススメ

SNAP i.d. 2.0 は、転写膜にプロットされたターゲットに対する抗原抗体反応を飛躍的に効率化する、画期的な吸引式免疫反応システム。振とうによる従来の方法では免疫反応に4時間以上要していた工程を、吸引方式により膜と試薬を能動的に接触させることで時間を大幅に短縮できます。ブロッキング効率や洗淨効率も向上し、バックグラウンドが低く特異的なシグナル検出が実現します。

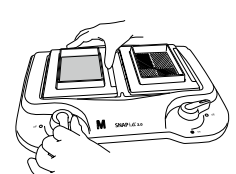
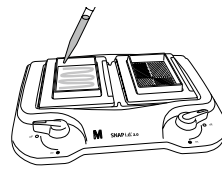
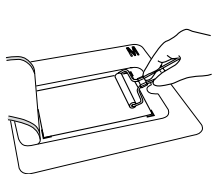
特長 ● 抗原抗体反応を飛躍的に効率化

画期的な吸引式免疫反応システムにより、プロットされたターゲットに対する抗原抗体反応、ブロッキング、洗淨の効率が飛躍的に向上。

● 大幅な時間短縮(約4時間→約30分!)

振とう器を用いた従来の方法では免疫反応に4時間以上要していた工程を、吸引方式を用いることで約30分に大幅短縮。

使用方法 ※ 詳細な手順はユーザーガイドをご参照ください。



① プロットホルダーに転写後のプロットをはさむ

② プロットホルダーをフレームにセットする

③ 各種溶液はピペッターでまんべんなく添加する

④ ノブをONに回し吸引すると、液がプロットを貫通する

〈お客様にご準備いただくもの〉

41 kPa(21 inch Hg)以上の定圧と34 L/min以上の流量を供給可能なポンプ / 1 L以上の容量のストッパー付き吸引フラスコ / バキュームチューブ / ピンセット / 一次抗体と二次抗体

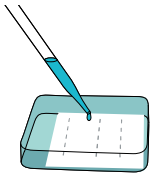
Immobilon GO デバイスによる簡易な免疫反応



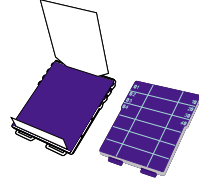
Immobilon GO 本体

Immobilon GO フタ

1. 2. 3.



1. 湿潤化させたメンブレンを、タンパク質側を上面にしてディッシュに載せます。2% NFDM 含有プロット用バッファー10 mLをメンブレンの上から添加し、5～10分間インキュベートします。

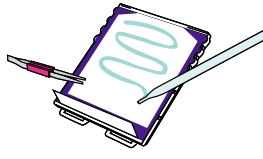


2. 2% NFDM 含有プロット用バッファーに溶解した一次抗体および二次抗体希釈液を調製します。それぞれ計 1 mL 必要です。
3. Immobilon GO デバイスを開いて、フローマトリクスの両端を折り返します。

4. 5. 6.



4. プロットしたメンブレンをタンパク質側を上面にし、ステージの縁から 1 cm 離して置きます。
※ このとき低分子量タンパク質がフローマトリクスの折り込んだ側 (図の上側) に来るように設置してください。

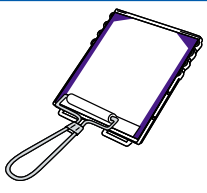


5. フローマトリクスをメンブレンの上に折りかぶせて、2% NFDM 含有プロット用バッファー 4 mL をフローマトリクスの上からまんべんなく添加します。

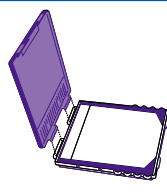


6. 均一に密着するように、プロットローラーを充填ポート側からフローマトリクススタブの方向に動かします。

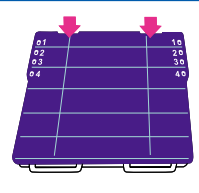
7. 8. 9.



7. プロットローラーを使ってフローマトリクススタブを折りたたみます。このとき気泡をすべて取り除いて、完全に密着させてください。



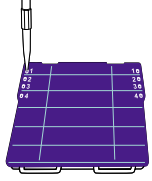
8. フタを元に戻します。



9. 矢印の箇所をゆっくりと押し下げます。フタが閉まるとカチッと音がします。

10. 11.

充填ポート	Aサイド	Bサイド
	容量 (mL)	
1	0.5	0.5
2	0.5	0.5
3	0.5	0.5
4	3.0	3.0



試薬	充填ポート	Aサイド	Bサイド
		容量 (mL)	
一次抗体	1	0.5	0.5
二次抗体	2	0.5	0.5

10. 上記に示す容量と順序 (例: ポート 1A に充填後、1B を充填) で 2% NFDM 含有プロット用バッファーを試薬充填ポートから添加し、Immobilon GO デバイスを始動します。

11. 上記に示す容量と順序で一次抗体と二次抗体を添加します。

12. 13. 14.

12. Immobilon GO デバイスを室温で最低 3 時間インキュベートします。

13. Immobilon GO デバイスからプロットを取り出し、50 mL TBS-T で 5 分間洗浄を 2 回行います。

14. 続けてご希望の検出方法を実施してください。


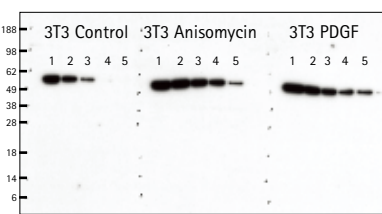
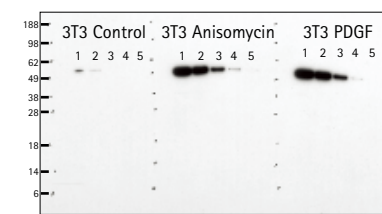
SNAP i.d. 2.0 吸引式免疫反応システムの概要

フレームの種類

	MultiBlot フレーム	Mini フレーム	Midi フレーム
プロットサイズ	4.5 cm × 8.4 cm	7.5 cm × 8.4 cm	8.5 cm × 13.5 cm
試薬の必要量	ブロッキング溶液 15 mL 抗体溶液 2.5 mL 洗浄バッファー 15 mL × 4 回	30 mL 5 mL 30 mL × 4 回	30 mL 10 mL 30 mL × 4 回

実験データ

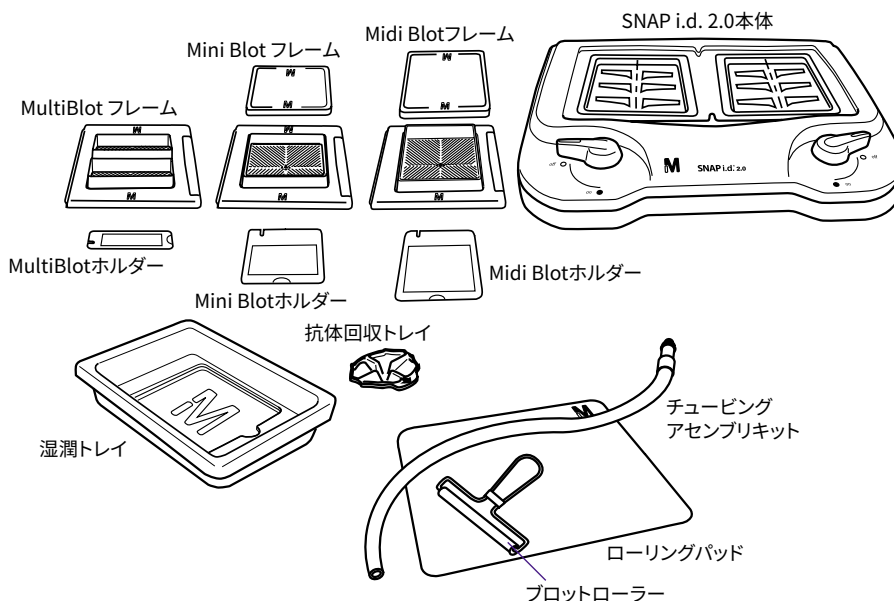
抗体反応時間を延長すれば、従来法と同じ抗体濃度でも、より高感度な検出を実現できます。

	a. SNAP i.d. 2.0 Midi Blot (1 時間プロトコール)	b. SNAP i.d. 2.0 Midi Blot (標準プロトコール)	c. 従来の免疫反応
検出結果			
ブロッキング	0.5% NFDm、20 秒間	0.5% NFDm、20 秒間	0.5% NFDm、1 時間
一次抗体	anti-β-Tubulin 1 : 5,000、1 時間	anti-β-Tubulin 1 : 1,000、10 分間	anti-β-Tubulin 1 : 5,000、1 時間
二次抗体	Goat anti-Mouse Ig 1 : 10,000、10 分間	Goat anti-Mouse Ig 1 : 10,000、10 分間	Goat anti-Mouse Ig 1 : 50,000、1 時間
所要時間	1 時間 15 分	30 分間	3 時間 30 分

SNAP i.d. 2.0 の標準プロトコールでは 10 分間の抗体反応を推奨していますが、反応時間を長くすることでより感度を上げることも可能です。SNAP i.d. 2.0 の標準プロトコール、延長プロトコールおよび従来法の 3 つの方法で β-tubulin を検出した結果を比べました。

レーン	濃度 (μg)
1	10
2	5
3	2.5
4	1.25
5	0.63

システム構成



ご注文情報

Immobilon GO



製品名	容量	カタログ番号	製品名	容量	カタログ番号
Immobilon GO デバイス	10	IMGDV010	プロットローラー	1	SNAP2RL
	2	IMGDV002	フィルターピンセット	3	XX6200006P

詳しい製品情報は [こちらから](http://www.sigma-aldrich.com/immobilon-go-jp) www.sigma-aldrich.com/immobilon-go-jp

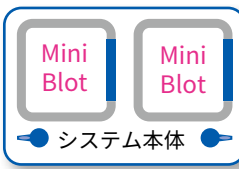
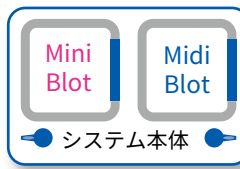
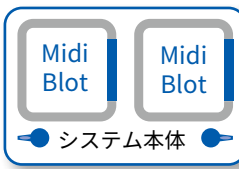
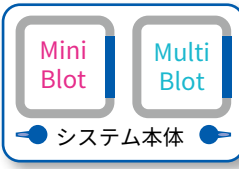
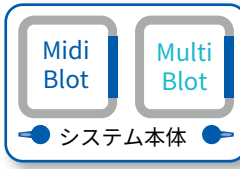
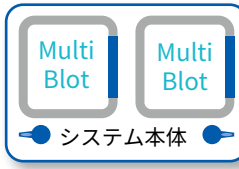
SNAP i.d.2.0



	製品名	包装単位	カタログ番号
本体	SNAP i.d. 2.0 本体 *	1	SNAP2BASE
フレーム	SNAP i.d. 2.0 MultiBlot フレーム	1	SNAP2FRMB01
	SNAP i.d. 2.0 Midi Blot フレーム	1	SNAP2FRMD01
	SNAP i.d. 2.0 Mini Blot フレーム	1	SNAP2FRMN01
プロットホルダー (消耗品)	SNAP i.d. 2.0 MultiBlot ホルダー	50	SNAP2BHMB050
	SNAP i.d. 2.0 MultiBlot ホルダー	200	SNAP2BHMB-K
	SNAP i.d. 2.0 Midi Blot ホルダー	100	SNAP2BHMD0100
	SNAP i.d. 2.0 Mini Blot ホルダー	100	SNAP2BHMN0100
アクセサリ	SNAP i.d. 2.0 プロットローラー	1	SNAP2RL
	SNAP i.d. 2.0 抗体回収トレイ	20	SNAPABTR

* 本体には、チューピングアセンブリキット、プロットローラー、ローリングパッド、湿潤トレイおよび抗体回収トレイが付属しています。

初めてのご購入なら、本体とフレームがセットになった
システムキットがお得です!

システムキット	Mini & Mini	Mini & Midi	Midi & Midi
構成内容	 システム本体	 システム本体	 システム本体
	SNAP2BASE × 1 SNAP2FRMN01 × 2	SNAP2BASE × 1 SNAP2FRMN01 × 1 SNAP2FRMD01 × 1	SNAP2BASE × 1 SNAP2FRMD01 × 2
カタログ番号	SNAP2MINI	SNAP2MM	SNAP2MIDI
システムキット	Mini & Multi	Midi & Multi	Multi & Multi
構成内容	 システム本体	 システム本体	 システム本体
	SNAP2BASE × 1 SNAP2FRMN01 × 1 SNAP2FRMB01 × 1	SNAP2BASE × 1 SNAP2FRMD01 × 1 SNAP2FRMB01 × 1	SNAP2BASE × 1 SNAP2FRMB01 × 2
カタログ番号	SNAP2MB1	SNAP2MB2	SNAP2MB3

吸引源 (推奨) その他関連製品

製品名	包装単位	カタログ番号
吸引加圧ポンプ * (Chemical Duty Pump)	1	WP6110060
吸引加圧ポンプ (High Output Pump)	1	WP6210060
1L 吸引フラスコ	1	XX1014705
ゴム栓	5	XX2004718
シリコンチューブ	1	MSVMHTS09
保護フィルター Millex-FA50	10	SLFA05010

* Chemical Duty ポンプ (カタログ番号 WP6110060) をご使用の場合、High Output ポンプ (カタログ番号 WP6210060) よりも工程処理時間が長くなる場合があります。

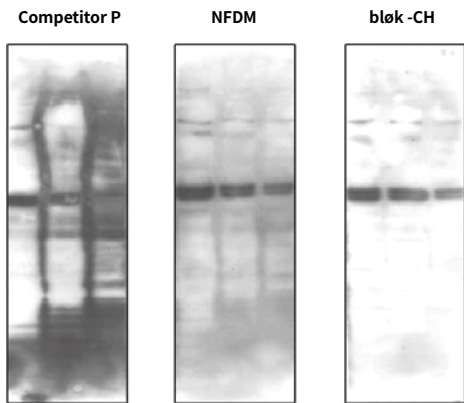
詳しい製品情報は [こちらから](http://www.merckmillipore.com/snap-id-v2-jp) www.merckmillipore.com/snap-id-v2-jp

ブロッキング剤

プロテインフリーだから非特異吸着しにくい

bløk[®]

ブロッキング剤としてはもちろん、抗体希釈液としてお使いいただくことで、非特異的な抗原抗体反応によるバックグラウンドシグナルを抑えることができるノイズキャンセリング試薬です。プロテインフリーなので、ウェスタンブロットティングでの検出後に、全タンパク質をCBB染色することも可能です。3種類のラインナップがあります。



bløk-CH の性能例 EGF 刺激 A431 細胞抽出液中の p53 検出
 対象サンプル : EGF 刺激 A431 細胞抽出液 (10-2.5 μg/ レーン)
 抗体 : 抗 p53 抗体 (1:1,000) bløk-CH にて希釈
 化学発光検出 : Immobilon[®] Forte (カタログ番号 [WBLUF0500](#))

ブロッキング剤 : 競合品 P (左)
 NFDМ/ スキムミルク (中央)
 bløk-CH ノイズキャンセリング試薬 (右)

ご注文情報

製品名	特長 / 用途	保存温度	包装単位	カタログ番号
bløk-CH ノイズキャンセリング試薬	HRP/AP 化学発光検出用	室温	100 mL	WBAVDCH01-100ML
			500 mL	WBAVDCH01
bløk-FL ノイズキャンセリング試薬	蛍光検出用	室温	100 mL	WBAVDFL01-100ML
			500 mL	WBAVDFL01
bløk-PO ノイズキャンセリング試薬	化学発光または蛍光法を用いたリン酸化チロシン残基の検出	室温	100 mL	WBAVDP001-100ML
			500 mL	WBAVDP001
BLOT-QuickBlocker Reagent	ミルク由来改変プロテイン液体タイプで使いやすく、ブロッキング時間も短縮可能	室温	175 g	WBS7-175GM
ChemiBLOCKER	動物由来のタンパク質を含まず、希釈して使用可能 (最大 20 倍)	2 ~ 8°C	500 mL × 2 本	2170
Immunoblot Blocking Reagent	防腐剤を含まないビタミン A パルミチン酸とビタミン D2 を強化した脱脂粉乳	4°C	20 g	20-200
Albumin, Bovine Serum, Fraction V, Fatty Acid-Free, Nuclease- and Protease-Free	脂肪酸フリー、核酸フリー、プロテアーゼフリーの仔牛血清アルブミン	2 ~ 8°C	5 g	126609-5GM
			10 g	126609-10GM
			100 g	126609-100GM
SeaBlock, Salmon Plasma	哺乳類抗体と相互作用しにくいサケ血漿タンパク質由来のブロッキング試薬	2 ~ 8°C	500 mL	558300-500ML

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマアルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】 <メルク製品> TEL: 03-4531-1140 FAX: 03-5434-4859 Email: jpts@merckgroup.com
 <シグマ製品> TEL: 03-6756-8245 FAX: 03-6756-8302 Email: jpts@merckgroup.com

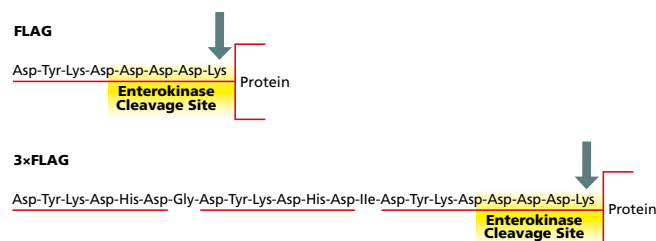
一次抗体

タグ抗体

FLAG® タグ

DYKDDDDK のペプチドからなる FLAG 融合タンパク質の発現系はタグ融合組換えタンパク質の発現、精製、検出用に確立されたシステムです。ウェスタンブロット、免疫組織化学、免疫沈降、フローサイトメトリー、タンパク質精製やタンパク質間相互作用、細胞の微細構造、タンパク質同定等、多くのアプリケーションで実績を残しています。FLAG 融合タンパク質に対し高い特異性と高感度検出を可能にする Anti-FLAG 抗体を使うことで、検出、精製が容易に行えます。

FLAG タグの詳細は下記アドレスをご参照ください
sigma-aldrich.com/flag-jp



FLAG タグと 3xFLAG タグのアミノ酸配列

N 末端 FLAG タグ (アミノ酸 8 個) と 3 × FLAG タグ (アミノ酸 22 個) は、タグの C 末端にある Asp-Asp-Asp-Asp-Lys 配列の下流でエンテロキナーゼに切断されます。

FLAG タグ融合タンパク質精製

製品名	製品情報	適用	カタログ番号
抗 FLAG M2 抗体アフィニティビーズ (アフィニティレジン)	N 末端、C 末端の FLAG タグ (DYKDDDDK) を認識するマウスモノクローナル抗 FLAG M2 抗体を共有結合させたアガロースビーズ。FLAG タグ融合タンパク質は FLAG ペプチドまたは 3xFLAG ペプチドなどで溶出することができます。	FLAG、3xFLAG 融合タンパク質の精製、免疫沈降	A2220
抗 FLAG M2 抗体磁気ビーズ	担体の 4% アガロースビーズが磁気を帯びているため、磁石によって分離することができます。	FLAG、3xFLAG 融合タンパク質の精製、免疫沈降	M8823
FLAG ペプチド	抗 FLAG M2 抗体アフィニティレジンに結合させた FLAG タグ融合タンパク質の競合的溶出に用いられます。一般的な使用濃度 100 µL/mL。3xFLAG タグ融合タンパク質の溶出には不適です。	FLAG 融合タンパク質の溶出	F3290
3xFLAG ペプチド	抗 FLAG M2 抗体アフィニティレジンに結合させた 3xFLAG タグ融合タンパク質の競合的溶出に用いられます。一般的な使用濃度 100 µL/mL。	3xFLAG 融合タンパク質の溶出	F4799

FLAG タグ融合タンパク質検出

抗原：DYKDDDDK

交差性：N 末端、C 末端の FLAG タグ (DYKDDDDK) および 3xFLAG タグ

タグ名	免疫動物	Mono/Poly	クローン名	カタログ番号						精製方法
				非標識	FITC	HRP	Biotin	AP	Cy3	
FLAG M2	Mouse	Mono	M2	F3165	F4049	A8592	F9291	A9469	A9594	精製イムノグロブリン
FLAG M2	Mouse	Mono	M2	F1804						アフィニティ精製
FLAG M1	Mouse	Mono	M1	F3040						精製イムノグロブリン
FLAG	Rabbit	Poly	—	F7425						アフィニティ精製

その他のタグ抗体

FLAG タグ以外にも、タグ抗体を複数の標識で取り扱っています。各製品の詳細は弊社 WEB ページにてご確認ください。

タグ名	免疫動物	Mono/Poly	クローン名	カタログ番号				抗原	精製方法
				非標識	FITC	HRP	Biotin		
c-Myc	Rabbit	Poly	—	C3956		A5598		peptide corresponding amino acids 408-425 of the human c-Myc proto-oncogene	アフィニティ精製
c-Myc	Mouse	Mono	9E10	M4439	F2047		B7554	p62 c-Myc protein	精製イムノグロブリン
HA	Mouse	Mono	HA-7	H3663	H7411	H6533	B9183	a fragment of human influenza virus hemagglutinin	精製イムノグロブリン

Novagen

製品名	抗原	免疫動物	アイソタイプ	カタログ番号
GST•Tag Monoclonal Antibody	220-aa GST protein	Mouse	IgG1	71097
His•Tag™ Monoclonal Antibody	HisHisHisHisHis	Mouse	IgG1	70796
HSV•Tag™ Monoclonal Antibody	GlnProGluLeuAlaProGluAspProGluAsp	Mouse	IgG1	69171
S•Tag Monoclonal Antibody	LysGluThrAlaAlaAlaLysPheGluArgGlnHisMetAspSer	Mouse	IgG2b	71549
T7•Tag Monoclonal Antibody	MetAlaSerMetThrGlyGlyGlnGlnMetGly	Mouse	IgG2b	69522
Trx•Tag Monoclonal Antibody	109-aa TrxA protein	Mouse	IgG2b	71542

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

ZooMAb® リコンビナント・モノクローナル抗体

毎回の濃度計算が不要！同じ希釈倍率で使えます

ZooMAb リコンビナント・モノクローナル抗体は再現性の高い実験結果を提供し、かつ極めてユーザー・フレンドリーな組成、取り扱い、保存ができる最先端の『次世代』抗体です。

ZooMAbリコンビナント・モノクローナル抗体の3つの大きな特長

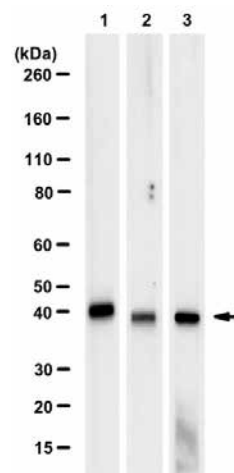
高い再現性：組換え技術によりロット間差がありません

防腐剤・安定化剤フリー：アプリケーションを阻害しません

使いやすいパッケージ：凍結乾燥品でお手持ちの超純水もしくはPBSで溶解可能です

BSA やアジ化ナトリウム、グリセロールを含みません。アプリケーション毎に最適な濃度でバイアルに分注しているため、ロットが変わっても濃度が一定で、25 µL の超純水もしくは PBS で溶解した後は同じ希釈倍率でアプリケーションに使用できます。パッケージは 25 µL が 1 本と 4 本の 2 種類です。

ZooMAb の詳細は下記アドレスをご参照ください
sigma-aldrich.com/zoomab-jp



マウス胚性幹細胞 (レーン 1)、ヒト H9 幹細胞 (レーン 2)、NTERA2 細胞 (レーン 3) の各ライゼートを 1,000 倍希釈した抗 Sox-2 ZooMAb ウサギ・モノクローナル抗体 (クローン 1A2) (カタログ番号 ZRB5603-25UL) で反応させました。HRP 標識済みロバ抗ウサギ二次抗体を結合後、化学発光検出で可視化。矢印は Sox-2 (~ 32 kDa) を示します。

リン酸化検出抗体

リン酸化チロシン検出のゴールドスタンダード

4G10

1989 年に販売開始して以来、**使用論文が 2,400 報を超える**抗リン酸化チロシン抗体の代名詞とも言えるモノクローナル抗体です。シグナル受容体、プロテインキナーゼ、G タンパク質やシグナル伝達分子のチロシン残基リン酸化を検出する、シグナル伝達研究に極めて有用な抗体です。リン酸化セリンやリン酸化スレオニンとの交差活性はありません。

広範囲のリン酸化チロシンを検出する抗体カクテル

4G10 Platinum

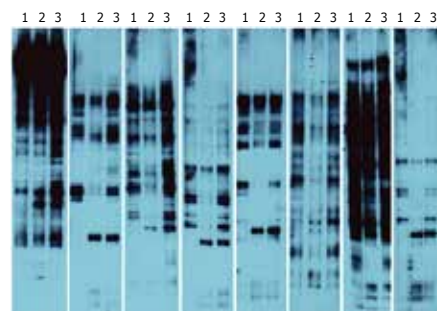
4G10 Platinum は 4G10 をベースに開発されたリン酸化チロシン抗体のカクテルです。実績豊富な 4G10 抗体に抗リン酸化チロシン抗体である PY20 クローン由来の抗体を加え、検出精度を向上させた製品です。

リン酸化セリン検出抗体

4A4

真核細胞に含まれる全タンパク質の 1/3 は、リン酸化修飾の標的になりうると予想されています。そのほとんどはセリンまたはスレオニンのリン酸化であると考えられています。本抗体は、リン酸化セリン特異的抗体として標準的に使用されています。

upstate



Cells: A431, 293, NIH/3T3, RAW, 293, 3T3/L1, 293, RAW
Treatment: EGF, EGF, PDGF, LPS, Insulin, Insulin, PV, Anisomycin

リン酸化チロシン抗体の比較

リン酸化誘導した細胞ライゼート 8 種類を SDS-PAGE で展開後、PVDF メンブレンに転写しました。各サンプルに対して異なる 3 種類の抗リン酸化チロシン抗体を反応させました。

レーン 1: 4G10 (カタログ番号 05-321)

レーン 2: PY20 (カタログ番号 05-947)

レーン 3: 4G10 Platinum (カタログ番号 05-1050)

いずれの結果からも、4G10 と PY20 のカクテルである 4G10 Platinum の検出精度が高いことがわかります。

製品名	免疫動物	Mono/Poly	アイソタイプ	カタログ番号				
				非標識	HRP	Biotin	FITC	アガロース
Anti-Phosphotyrosine Antibody, clone 4G10	Mouse	Mono	IgG _{2b} κ	05-321	16-105	16-103	16-104	16-101
Anti-Phosphotyrosine Antibody, 4G10 Platinum	Mouse	Mono	Cocktail IgG _{2b}	05-1050	16-316	16-452		16-638
Anti-Phosphoserine Antibody, clone 4A4	Mouse	Mono	IgG ₁	05-1000	16-455	16-453		

Anti-Phosphotyrosine Antibody, clone 4G10 と Anti-Phosphoserine Antibody, clone 4A4 の少容量をセットにしたお得な「Phosphorylation Explorer Pack Sample Kit (カタログ番号 17-499)」もご用意しています。

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】 <メルク製品> TEL: 03-4531-1140 FAX: 03-5434-4859 Email: jpts@merckgroup.com
<シグマ製品> TEL: 03-6756-8245 FAX: 03-6756-8302 Email: jpts@merckgroup.com

二次抗体

CHEMICON upstate

二次抗体を選ぶ基本ポイント

● 一次抗体の宿主動物（免疫動物）

右の表を参考にお選びください。

● 二次抗体の標識の種類

検出する方法に応じて標識を選びます。

● アプリケーション

二次抗体の製品情報に書かれている使用可能なアプリケーションを参考にして、目的の用途に応じて選びます。

一次抗体の宿主（免疫動物）	二次抗体
ウサギ	ウサギ IgG に対する抗体
ニワトリ	ニワトリ IgY に対する抗体
ラット	ラット IgG に対する抗体

一次抗体の宿主	一次抗体のアイソタイプ	二次抗体
マウス	IgG1	マウス IgG に対する抗体
	IgG2a	
	IgG2b	
	IgG3	
	IgA	マウス IgA (α 鎖) に対する抗体
	IgM	マウス IgM (μ 鎖) に対する抗体

最適な二次抗体を選ぶヒント

☑ 一次抗体のクラス・サブクラスは何か？

一次抗体がモノクローナル抗体の場合に重要なポイントになります。一次抗体がポリクローナル抗体であれば、抗体のイムノグロブリンのクラスは一般的に IgG のため、二次抗体は IgG に対する抗体でおおむね問題ありません。一次抗体がモノクローナル抗体の場合、抗体のイムノグロブリンが IgG ではないこともあります。そのためモノクローナル抗体がどのイムノグロブリンであるか確認し、そのイムノグロブリンクラスに対する抗体を二次抗体として使用する必要があります。例えば、モノクローナル抗体のイムノグロブリンがマウス IgM の場合、マウス IgM に対する抗体を用います。またマウスのモノクローナル抗体でイムノグロブリンのサブクラスが不明な場合、多くのマウスイムノグロブリンサブクラスを認識するマウス IgG F(ab) に対する抗体を二次抗体として用いることもできます。

ヒトやマウスの IgG は多くのクラスやサブクラスがあり、二次抗体の選択は複雑になります。ただし IgG、IgM、IgA、IgD および IgE はいずれも κ または λ 軽鎖を持ち、つまりこれらの IgG は軽鎖 (κ、λ) が共通しています。一方、重鎖はクラスによって特異的に異なります。

☑ どの標識を選べば良いか？

標識は行うアプリケーションによって選ぶ必要があります。イムノプロット、ウェスタンプロットや ELISA においてペルオキシダーゼはアルカリホスファターゼより経済的で安定的な酵素で、化学発光法にもよく用いられています。アルカリホスファターゼは発色法のときペルオキシダーゼより感度が良いという特徴があります。

またビオチン／アビジンによる 2 ステップのシステムは、検出の増幅に用いられることがあります。ビオチンはアビジンに非可逆的に強く結合します。この性質を利用して、まずビオチン標識した二次抗体を用い、次にアビジン（または ExtrAvidin、ストレプトアビジン）が結合した酵素または蛍光色素を与えます。ビオチン標識した二次抗体に複数結合することによって、シグナルが増幅されて感度が高くなります。

☑ 吸収済みの二次抗体は必要か？

吸収済みの抗体 (pre-adsorbed antibody) とは固定した血清タンパク質や IgG で処理した抗体で、細胞や組織で非特異的なバックグラウンドを抑えることが期待できます。

☑ F(ab) や F(ab')₂ フラグメント抗体は必要か？

Fc 受容体を持つ組織や細胞で行う場合、非特異的な結合を抑えるため F(ab) や F(ab')₂ フラグメントにした抗体が使われることがあります。サンプルとしてリンパ節、脾臓、末梢血から得たものは Fc 受容体 (マクロファージ、B リンパ球、ナチュラルキラー細胞) を持ち、抗体の Fc 領域に結合することで高いバックグラウンドが生じます。

さらに詳しい二次抗体の選び方は下記アドレスをご参照ください

bit.ly/SecondariesJP

抗マウス Ig 抗体

製品名	反応性	免疫動物	Poly/Mono	吸収処理	標識	用途	カタログ番号
Anti-Mouse Ig (L) Antibody, AP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP200A
Anti-Mouse Ig (L) Antibody, Biotin conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	Biotin	WB, ELISA, FC, ICC, IHC (P)	AP200B
Anti-Mouse Ig (L) Antibody, Cy3 conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	Cy3	WB, ELISA	AP200C
Anti-Mouse Ig (L) Antibody, HRP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP200P
Anti-Mouse IgG & IgM Antibody, HRP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP130P
Anti-Mouse IgG (F (ab') ₂) Antibody, HRP conjugate	Mouse	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AQ160P
Anti-Mouse IgG (Fc) Antibody, HRP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP127P
Anti-Mouse IgG (whole molecule) — Alkaline Phosphatase antibody produced in goat	Mouse	Goat	Poly	+	AP	WB, ELISA, IHC, DB	A3688
Anti-Mouse IgG (whole molecule) — Alkaline Phosphatase antibody produced in goat	Mouse	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA, IHC, DB	A3562
Anti-Mouse IgG (H+L) Antibody, AP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP308A
Anti-Mouse IgG (H+L) Antibody, HRP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, ICC, IHC,	AP308P
Anti-Mouse IgG (H+L) Antibody, HRP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	AP124P
Anti-Mouse IgG (whole molecule)–Peroxidase antibody produced in rabbit	Mouse	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	A9044
Anti-Mouse IgG Antibody, AP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP124A
Anti-Mouse IgG Antibody, AP conjugate	Mouse	Rabbit	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP160A
Anti-Mouse IgG Antibody, AP conjugate, Species Adsorbed	Mouse	Donkey	Poly	+	AP	WB, ELISA	AP192A
Anti-Mouse IgG Antibody, Biotin conjugate, Species Adsorbed	Mouse	Donkey	Poly	+	Biotin	WB, ELISA	AP192B
Anti-Mouse IgG Antibody, Biotin-SP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	Biotin-SP	WB, ELISA	AP124B
Anti-Mouse IgG Antibody, Biotin-SP conjugate, Species Adsorbed	Mouse	Goat	Poly	+	Biotin-SP	WB, ELISA	AP181B
Anti-Mouse IgG Antibody, HRP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	12-349
Anti-Mouse IgG Antibody, HRP conjugate	Mouse	Chicken	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP126P
Anti-Mouse IgG Antibody, HRP conjugate	Mouse	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP160P
Anti-Mouse IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Mouse	Goat	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP181P
Anti-Mouse IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Mouse	Donkey	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP192P
Anti-Mouse IgM (μ) Antibody, HRP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP128P
Anti-Mouse IgM (μ) Antibody, HRP conjugate	Mouse	Goat	Poly	—	HRP	WB	12-489

抗ウサギ Ig 抗体

製品名	反応性	免疫動物	Poly/Mono	吸収処理	標識	用途	カタログ番号
Anti-Rabbit Ig (L) Antibody, AP conjugate;	Rabbit	Mouse	Mono	—	AP	WB, ELISA	MAB201A
Anti-Rabbit Ig (L) Antibody, Biotin conjugate;	Rabbit	Mouse	Mono	—	Biotin	WB, ELISA, FC, IHC	MAB201B
Anti-Rabbit Ig (L) Antibody, Cy3 conjugate	Rabbit	Mouse	Mono	—	Cy3	WB, ELISA	MAB201C
Anti-Rabbit Ig (L) Antibody, HRP conjugate;	Rabbit	Mouse	Mono	—	HRP	WB, ELISA, ICC, IHC	MAB201P
Anti-Rabbit IgG (F (ab') ₂) Antibody, Biotin-SP conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	Biotin-SP	WB, ELISA	AQ132B
Anti-Rabbit IgG (F (ab') ₂) Antibody, HRP conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AQ132P
Anti-Rabbit IgG (Fc) Antibody, HRP conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP156P
Anti-Rabbit IgG (whole molecule)–Alkaline Phosphatase antibody produced in goat	Rabbit	Goat	Poly	+	AP	WB, ELISA, IHC	A9919
Anti-Rabbit IgG (whole molecule)–Alkaline Phosphatase antibody produced in goat	Rabbit	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA, IHC	A3687
Anti-Rabbit IgG (H+L) Antibody, AP conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP307A
Anti-Rabbit IgG (H+L) Antibody, HRP conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, ICC, IHC	AP307P
Anti-Rabbit IgG (whole molecule)–Peroxidase antibody produced in goat	Rabbit	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	A0545
Anti-Rabbit IgG Antibody, AP conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA, IHC	12-448
Anti-Rabbit IgG Antibody, AP conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP132A
Anti-Rabbit IgG Antibody, AP conjugate, Species Adsorbed	Rabbit	Donkey	Poly	+	AP	WB, ELISA	AP182A
Anti-Rabbit IgG Antibody, Biotin-SP conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	Biotin-SP	WB, ELISA	AP132B
Anti-Rabbit IgG Antibody, Biotin-SP conjugate, Species Adsorbed	Rabbit	Donkey	Poly	+	Biotin-SP	WB, ELISA	AP182B
Anti-Rabbit IgG Antibody, Biotin-SP conjugate, Species Adsorbed	Rabbit	Goat	Poly	+	Biotin-SP	WB, ELISA	AP187B
Anti-Rabbit IgG Antibody, HRP-conjugate	Rabbit	Sheep	Poly	—	HRP	WB	AP510P
Anti-Rabbit IgG Antibody, HRP-conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	HRP	WB, IHC, ELISA	12-348
Anti-Rabbit IgG Antibody, HRP-conjugate	Rabbit	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	AP132P
Anti-Rabbit IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Rabbit	Donkey	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP182P
Anti-Rabbit IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Rabbit	Goat	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP187P
Anti-Rabbit IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Rabbit	Mouse	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP188P

抗ラット Ig 抗体

製品名	反応性	免疫動物	Poly/Mono	吸収処理	標識	用途	カタログ番号
Anti-Rat Ig (L) Antibody, AP conjugate;	Rat	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP202A
Anti-Rat Ig (L) Antibody, Biotin conjugate;	Rat	Goat	Poly	—	Biotin	WB, ELISA, FC, ICC, IHC	AP202B
Anti-Rat Ig (L) Antibody, Cy2 conjugate	Rat	Goat	Poly	—	Cy2	WB, ELISA	AP202J
Anti-Rat Ig (L) Antibody, Cy3 conjugate	Rat	Goat	Poly	—	Cy3	WB, ELISA	AP202C
Anti-Rat Ig (L) Antibody, HRP conjugate	Rat	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, ICC, IHC	AP202P
Anti-Rat IgG (whole molecule)–Alkaline Phosphatase antibody produced in rabbit	Rat	Rabbit	Poly	—	AP	WB, ELISA, IHC	A6066
Anti-Rat IgG (whole molecule) — Peroxidase antibody produced in rabbit	Rat	Rabbit	Poly	+	HRP	WB, ELISA, IHC	A5795
Anti-Rat IgG Antibody, AP conjugate	Rat	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP136A
Anti-Rat IgG Antibody, Biotin conjugate, Species Adsorbed	Rat	Donkey	Poly	+	Biotin	WB, ELISA	AP189B
Anti-Rat IgG Antibody, Biotin-SP conjugate, Species Adsorbed	Rat	Goat	Poly	+	Biotin-SP	WB, ELISA	AP183B
Anti-Rat IgG Antibody, HRP conjugate	Rat	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	AP136P
Anti-Rat IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Rat	Goat	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP183P
Anti-Rat IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Rat	Donkey	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP189P

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。
ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

【製品の技術的なお問い合わせ（テクニカルサービス）】 <メルク製品> TEL : 03-4531-1140 FAX : 03-5434-4859 Email : jpts@merckgroup.com
<シグマ製品> TEL : 03-6756-8245 FAX : 03-6756-8302 Email : jpts@merckgroup.com

抗ヤギ Ig 抗体、抗ヒツジ Ig 抗体

製品名	反応性	免疫動物	Poly/Mono	吸収処理	標識	用途	カタログ番号
Anti-Goat IgG (F (ab') ₂) Antibody, HRP conjugate	Goat	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AQ106P
Anti-Goat IgG (Fc) Antibody, HRP conjugate	Goat	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP107P
Anti-Goat IgG Antibody, AP conjugate	Goat	Rabbit	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP106A
Anti-Goat IgG Antibody, AP conjugate, Species Adsorbed	Goat	Donkey	Poly	+	AP	WB, ELISA	AP180A
Anti-Goat IgG Antibody, Biotin-SP conjugate, Species Adsorbed	Goat	Donkey	Poly	+	Biotin-SP	WB, ELISA, FC, IF, IHC	AP180B
Anti-Goat IgG Antibody, HRP conjugate	Goat	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	AP106P
Anti-Goat IgG Antibody, HRP conjugate	Goat	Chicken	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP163P
Anti-Goat IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Goat	Donkey	Poly	+	HRP	WB, ELISA, IHC	AP180P
Anti-Goat IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Goat	Mouse	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP186P
Anti-Sheep IgG Antibody, AP conjugate, Species Adsorbed	Sheep	Donkey	Poly	+	AP	WB, ELISA	AP184A
Anti-Sheep IgG Antibody, Biotin-SP conjugate	Sheep	Rabbit	Poly	—	Biotin-SP	WB, ELISA	AP147B
Anti-Sheep IgG Antibody, Biotin-SP conjugate, Species Adsorbed	Sheep	Donkey	Poly	+	Biotin-SP	WB, ELISA	AP184B
Anti-Sheep IgG Antibody, HRP conjugate	Sheep	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	12-342
Anti-Sheep IgG Antibody, HRP conjugate	Sheep	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP147P
Anti-Sheep IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Sheep	Donkey	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP184P

抗テンジクネズミ (モルモット) Ig 抗体

製品名	反応性	免疫動物	Poly/Mono	吸収処理	標識	用途	カタログ番号
Anti-Guinea Pig IgG (F (ab') ₂) Antibody, HRP conjugate	Guinea Pig	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AQ108P
Anti-Guinea Pig IgG Antibody, Biotin conjugate	Guinea Pig	Goat	Poly	—	Biotin	WB, ELISA	AP108B
Anti-Guinea Pig IgG Antibody, Biotin conjugate, Species Adsorbed	Guinea Pig	Donkey	Poly	+	Biotin	WB, ELISA	AP193B
Anti-Guinea Pig IgG Antibody, HRP conjugate	Guinea Pig	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP108P
Anti-Guinea Pig IgG Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Guinea Pig	Donkey	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP193P

抗ニワトリ Ig 抗体

製品名	反応性	免疫動物	Poly/Mono	吸収処理	標識	用途	カタログ番号
Anti-Chicken IgG Antibody, AP conjugate	Chicken	Rabbit	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP162A
Anti-Chicken IgG Antibody, HRP conjugate	Chicken	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP162P
Anti-Chicken IgY Antibody, Biotin conjugate, Species Adsorbed	Chicken	Donkey	Poly	+	Biotin	WB, ELISA	AP194B
Anti-Chicken IgY Antibody, HRP conjugate	Chicken	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	12-341
Anti-Chicken IgY Antibody, HRP conjugate, Species Adsorbed	Chicken	Donkey	Poly	+	HRP	WB, ELISA	AP194P

抗ヒト Ig 抗体

製品名	反応性	免疫動物	Poly/Mono	吸収処理	標識	用途	カタログ番号
Anti-Human IgA & IgG & IgM Antibody, AP conjugate	Human	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP120A
Anti-Human IgA & IgG & IgM Antibody, HRP conjugate	Human	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA, IHC	AP120P
Anti-Human IgG (F (ab') ₂) Antibody, HRP conjugate	Human	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AQ112P
Anti-Human IgG (Fc) Antibody, AP conjugate	Human	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP113A
Anti-Human IgG (Fc) Antibody, HRP conjugate	Human	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP113P
Anti-Human IgG Antibody, AP conjugate	Human	Goat	Poly	—	AP	WB, ELISA	AP112A
Anti-Human IgG Antibody, Biotin conjugate	Human	Goat	Poly	—	Biotin	WB, ELISA	AP112B
Anti-Human IgG Antibody, HRP conjugate	Human	Rabbit	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP101P
Anti-Human IgG Antibody, HRP conjugate	Human	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP112P
Anti-Human IgG Antibody, HRP conjugate	Human	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP309P
Anti-Human IgM (Fc5 μ) Antibody, HRP conjugate	Human	Goat	Poly	—	HRP	WB, ELISA	AP114P

略語

WB	Western Blotting	HRP	Horseradish Peroxidase
FC	Flow Cytometry	DB	Dot Blot
IHC	Immunohistochemistry	L	Light chain
ICC	Immunocytochemistry	H	Heavy chain
IF	Immunofluorescence	μ	μ chain
AP	Alkaline Phosphatase	Biotin-SP	Biotin with a long SPacer

Poly = Polyclonal

Mono = Monoclonal

吸収処理

二次抗体の特異性を高めるために、抗原以外の動物種由来イムノグロブリンで吸収処理を行ったものを吸収処理(+)と示しています。吸収処理を行った具体的な動物種につきましては弊社 WEB サイトまたはテクニカルサービスでご確認いただけます。

プロテアーゼ阻害剤カクテル



cOmplete® プロテアーゼインヒビターカクテル錠

cOmplete は、動物、植物、酵母、バクテリアなどに含まれる、セリン、システイン、そしてメタロプロテアーゼなどの様々なプロテアーゼを効果的に阻害し、タンパク質を様々なプロテアーゼから保護します。

● 多くの溶液に使用可能

cOmplete は、可逆的および不可逆的の阻害剤を含み、様々なストックバッファーから各種ライセートまで多くの溶液にご使用いただけます。

● 簡単な調製操作

調製には、50 mL のタンパク質抽出溶液に cOmplete を 1 錠加えるだけの簡単操作です。より少量の溶液用に cOmplete mini もあります (溶液 10 mL に 1 錠)。

cOmplete プロテアーゼインヒビターカクテル錠による様々なプロテアーゼの阻害効果

プロテアーゼの種類	濃度 (µg/mL)	cOmplete 添加 60 分後の阻害効果
脾臓抽出物	15	99%
トリプシン	0.2	89%
パバイン	1.0	73%
サーモライシン	0.8	100%

タンパク質分解活性は、レソルフリン標識カゼインを用いて測定しました。酸性 pH 条件下にて、抽出確認はシングルステップの単離が必要な場合は、アスパラギン酸 (酸性) プロテアーゼが確実に阻害されるように、さらにペプスタチンを添加しました。

ご注文情報

製品名	包装単位	包装形態	カタログ番号	製品名	包装単位	包装形態	カタログ番号
cOmplete	20 錠	ガラスバイアル	11 697 498 001	cOmplete, EDTA-free	20 錠	ガラスバイアル	11 873 580 001
	3 × 20 錠		11 836 145 001		3 × 20 錠		05 056 489 001
cOmplete, Mini	25 錠	プリスターパック	11 836 153 001	cOmplete, Mini, EDTA-free	25 錠		11 836 170 001
cOmplete, EASY pack	20 錠		04 693 116 001	cOmplete, EDTA-free, EASY pack	20 錠		04 693 132 001
cOmplete, Mini, EASY pack	30 錠		04 693 124 001	cOmplete, Mini, EDTA-free, EAST pack	30 錠		04 693 159 001

抗体反応促進剤

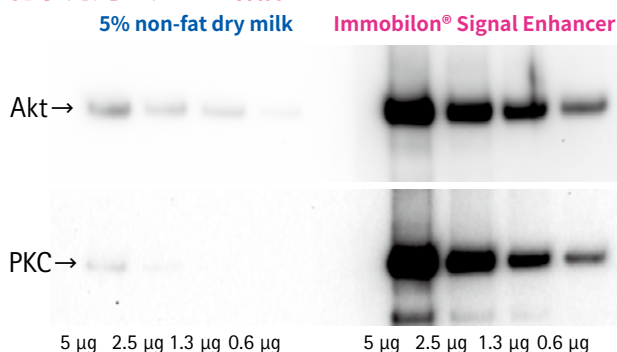
抗体量はそのままでシグナル増強

Immobilon® Signal Enhancer

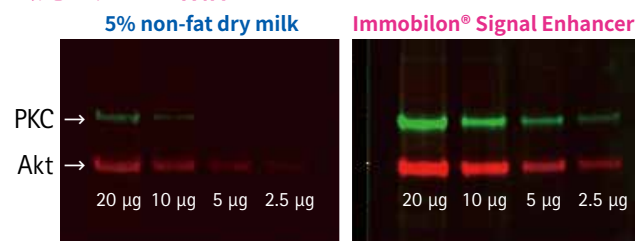
- 抗体希釈液として使用することで、シグナルを増幅しバックグラウンドを低減
- ドットブロッキング、ELISA などさまざまな免疫反応で使用可能
- 発色、化学発光、蛍光のいずれの検出方法にも使用可能
- 一本でブロッキング、抗体希釈、シグナル増幅が可能



化学発光シグナル増幅



蛍光シグナル増幅



ご注文情報

製品名	内容量	保管条件	カタログ番号
Immobilon Signal Enhancer	500 mL	2 - 8°C	WBSH0500

検出試薬の選定は、ウェスタンブロットティングの結果に大きく関わります。

一般的には、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP)、アルカリホスファターゼ (AP) などの酵素を共有結合させた二次抗体を用いる酵素免疫測定が使われています。

検出の結果は、目的のシグナル (S) とバックグラウンドノイズ (N) の比によって評価されます。すなわち S/N 比の最適化は検出の最適化といえます。現在もっとも主流である化学発光検出では、おもに抗体の濃度と検出試薬の感度を変えることで改善することが可能です。

薄いバンドをはっきり濃くさせるためには、抗体の濃度を上げることよりも検出試薬を高感度のものに変えることが有効です。

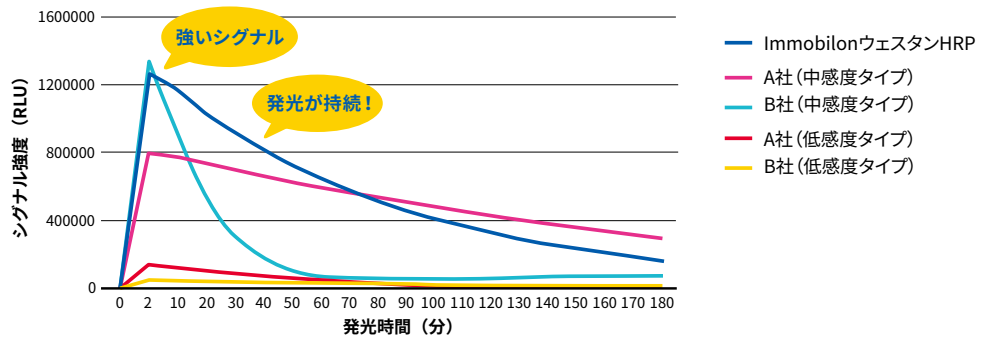
メルクには3種類の HRP 検出試薬があります。使い方や感度によって、お客様にとって使いやすいものをご選定ください。

化学発光試薬

長時間発光と高いコストパフォーマンス

Immobilon® ウェスタン検出試薬

トランスファーメンブレンでおなじみ Immobilon ブランドの HRP 化学発光試薬です。コストパフォーマンスの高さと発光時間の長さで好評の人気商品です。



ご注文情報

製品名	保管温度	包装単位	カタログ番号
Immobilon ウェスタン検出試薬 化学発光 HRP 基質 (同量の Peroxide Solution と Luminol reagent がセット)	2 - 8°C	50 mL (25 mL+25 mL)	WBKLS0050
		100 mL (50 mL+50 mL)	WBKLS0100
		500 mL (250 mL+250 mL)	WBKLS0500

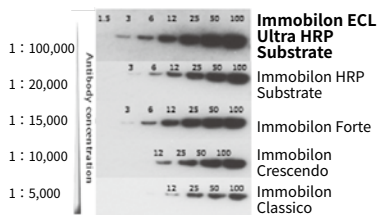
ウェスタン HRP 検出試薬

Immobilon® ECL Ultra ウェスタン検出試薬

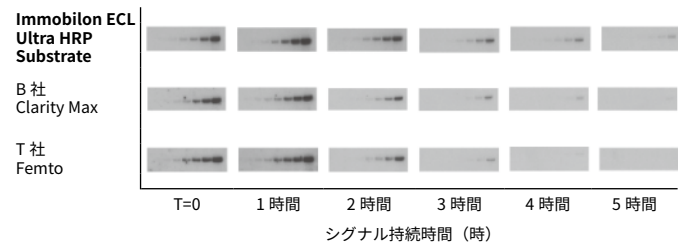
2液混合タイプの化学発光試薬/超高感度/長時間露光での使用にもお勧め



一次抗体希釈率



各社超高感度検出試薬の比較



ご注文情報

製品名	容量	内容	保管条件	検出可能面積	カタログ番号	
Immobilon ECL Ultra ウェスタン検出試薬 化学発光 HRP 基質	20 mL	Solution A (10 mL) Solution B (10 mL)	各 1 本	2 - 8°C	200 cm ²	WBULS0100-20ML
	100 mL	Solution A (50 mL) Solution B (50 mL)			1,000 cm ²	WBULS0100
	500 mL	Solution A (250 mL)	各 1 本	2 - 8°C	5,000 cm ²	WBULS0500
		Solution B (250 mL)				

1 液プレミックスの検出試薬 Immobilon[®]

HRP 用シグナル検出試薬といえば、使用時の都度調製が基本ですが、Immobilon シリーズはこれまでの常識を覆すプレミックスタイプの化学発光試薬で、検出試薬調製の手間がかかりません。3 種類の感度帯の製品ラインアップから、検出したいタンパク質の量に応じてお選びいただけます。高感度試薬である Immobilon Forte は室温保存が可能です。



検出範囲と保存条件



A431 細胞ライセートの中の GAPDH をウェスタンブロッティングで検出しました。それぞれ左のレーンから 10 μ g, 5 μ g, 2.5 μ g, 1.2 μ g の A431 細胞ライセートをサンプルとしています。転写後のメンブレンは免疫反応の後、Immobilon シリーズの 3 種類の検出試薬を添加し、X 線フィルムに 5 分間露光しました。

ご注文情報

製品名	検出範囲	保存条件	包装単位	カタログ番号
Immobilon Classico	6 pg -	4°C	20 mL	WBLUC0020
			100 mL	WBLUC0100
			500 mL	WBLUC0500
Immobilon Crescendo	1 pg -	4°C	20 mL	WBLUR0020
			100 mL	WBLUR0100
			500 mL	WBLUR0500
Immobilon Forte	400 fg -	室温	20 mL	WBLUF0020
			100 mL	WBLUF0100
			500 mL	WBLUF0500

発色試薬

Calbiochem

ウェスタンブロッティングの色素呈色検出の強い味方

ホースラディッシュペルオキシダーゼ基質・アルカリフォスファターゼ基質

発色による検出は化学発光に比べて感度は劣りますが、目視で確認できる手軽な検出方法です。メルクでは、酵素標識された二次抗体に添加する発色基質を揃えています。特にウェスタンブロッティングで発色検出を行う場合は、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) またはアルカリフォスファターゼ (AP) と反応して不溶性色素を生成する基質を使用します。

ご注文情報

ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) 基質

製品名	(化合物名)	CAS 番号	包装単位	カタログ番号
TMB	Insoluble (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine)	54827-17-7	100 mL	613548-100ML

アルカリフォスファターゼ (AP) 基質

製品名	(化合物名)	CAS 番号	包装単位	カタログ番号
BCIP/NBT	5-Bromo-4-chloro-3-indolylphosphate/Nitroblue Tetrazolium	—	100 mL	203790-100ML
BCIP, 2Na	5-Bromo-4-chloro-3-indolylphosphate, Disodium Salt	102185-33-1	1 g	203788-1GM
NBT	p-Nitroblue Tetrazolium Chloride	298-83-9	1 g	484235-1GM
			250 mg	484235-250MG
DAB-BUFFER TABLETS	3,3-Diamino benzidine	—	50 tabs	1.02924.0001

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマアルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】 <メルク製品> TEL: 03-4531-1140 FAX: 03-5434-4859 Email: jpts@merckgroup.com
<シグマ製品> TEL: 03-6756-8245 FAX: 03-6756-8302 Email: jpts@merckgroup.com

いまさら聞けない ウェスタンブロットingの基礎知識

ウェスタンブロット法とは

タンパク質をメンブレンにブロットingし、それ以降の解析に利用する技術は、1979年に Towbin らによって開発されてから今まで、タンパク質を扱う研究室にとって日常かつ不可欠な手法となっています(Towbin et al., 1979)。

ウェスタンブロット法では、タンパク質を含む試料を SDS-PAGE 後、PVDF 製メンブレンなどに電氣的に転写します。標的タンパク質は、特異的結合性を持つ抗体などの分子を利用し、特異的に検出されます。

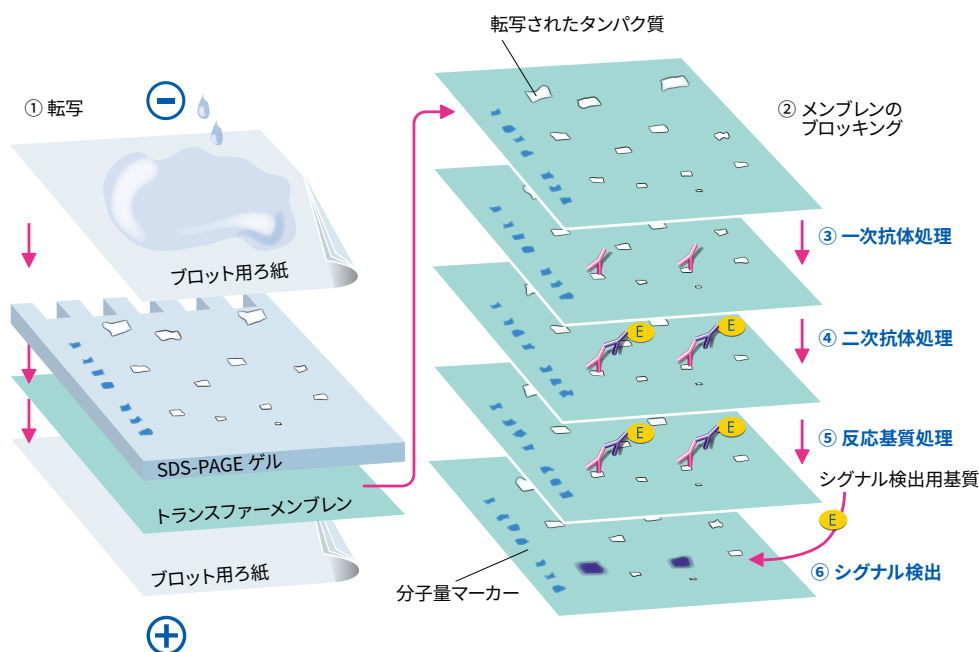


図1 ウェスタンブロットingのワークフロー

転写条件最適化のすすめ

ウェスタンブロットingは標的タンパク質の分離、転写、検出(抗原抗体)反応という3つの工程から成る複雑な手法です(図1)。思わしくない結果が得られた場合、最後の工程、つまり検出反応に原因があるのではないかと考えがちです。しかし、抗体濃度の調節がもたらす効果は、最終的に検出されるシグナルとノイズの両方に影響を与えることが多く、シグナル-ノイズ(S/N)比の改善には多くの労力が必要になる場合が見受けられます。

一方、転写条件の最適化はタンパク質の分子サイズに依存して大まかな指標があります。目的タンパク質のサイズを基準に条件の最適化を実施することで、メンブレンに転写されるタンパク質量を

増やすことが可能です。転写される標的タンパク質の量の増加は、S/N比の改善に繋がりがやすいことが知られています。

転写の工程では、SDS-PAGEゲル中でマイナスに帯電しているタンパク質-SDS分子複合体が電場から力を受け、プラス極側に移動します。ゲルから抜け出したタンパク質は、疎水性相互作用によりメンブレンに吸着します。一般的に、タンパク質が低分子であるほどゲルからもメンブレンからも抜け出しやすく、高分子であるほどゲルからは抜け出しにくくメンブレンに吸着しやすいことが知られていません(図2)。

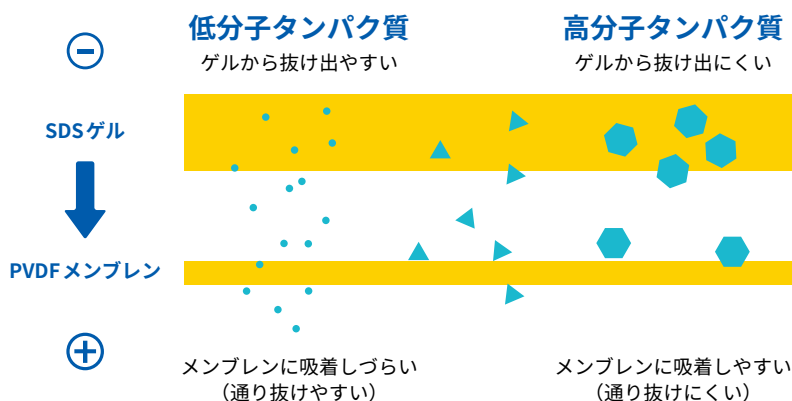


図2 サイズに依存した、転写時のゲルおよびメンブレン上のタンパク質挙動モデル

メタノール濃度の調節による 転写条件の最適化

低分子タンパク質であればメンブレンへの吸着効率を上げる条件、高分子タンパク質であればゲルからの溶出を促進する条件を検討することで、転写効率は向上します。実はこの条件検討は、転写バッファの組成を調整することで効率的に実施可能です。標準プロトコルでは、おおむね次に挙げる組成の転写バッファが推奨されています。

25 mM Tris Base
192 mM Glycine
10% Methanol

ここで重要なのはメタノール濃度です。メタノールはタンパク質と結合している SDS に置き換わることで、タンパク質のメンブレンへの吸着を促進します。したがって、低分子タンパク質の場合にはメタノール濃度を高め、高分子タンパク質の場合にはメタノール濃度を低めに変化させることで転写効率を改善可能です。ただし、メタノールはゲルの膨潤や変形を防ぐ効果も持ち合わせており、極端に低濃度の場合にはゲルの膨潤が、過剰な場合はゲルの収縮(変形)が起こりやすくなるのでご注意ください。

標的タンパク質と異なる位置のエキストラバンドが強く検出されてしまう場合も、転写条件の最適化がデータの改善につながる可能性が高いです。

Immobilon-PSQ で 低分子タンパク質の感度アップ

サンプルに含まれる標的タンパク質が微量な場合は、転写条件の最適化だけでは S/N 比の改善につながらないことが知られています。メンブレンに吸着するタンパク質の量を増やすことが、この場合の改善につながります。

トランスファーメンブレンの内部表面積の大きさは、吸着するタンパク質の量と比例関係にあります。したがって、トランスファーメンブレンの孔径を小さくすることが S/N 比の改善、つまり検出感度の上昇改善につながります。たとえば、トランスファーメンブレンとして広く使用されている immobilon-P (孔径 0.45 μm の PVDF 膜)ではなく、Immobilon-PSQ (孔径 0.2 μm の PVDF 膜)を使うことで、メンブレン上に吸着される総タンパク質の量を増やすことができ、微量タンパク質の S/N 比の改善が期待されます。

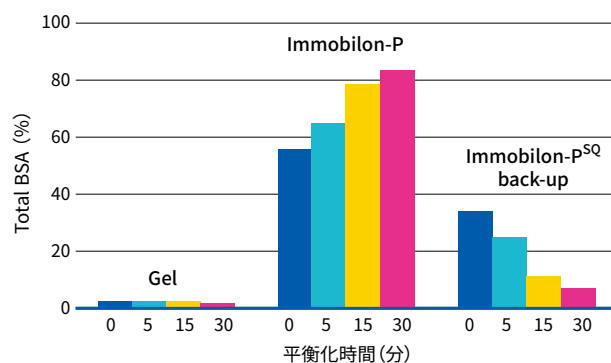
Immobilon-PSQ はタンパク質シークエンシング用に開発されたメンブレンですが、微量タンパク質の検出、吸着しにくい低分子タンパク質の検出や、検出感度が不十分な事例にもその特性が発揮されます。ただし、孔径の小さいメンブレンでは、抗体を含むタンパク質全般が吸着しやすい傾向があるため、メンブレンの孔径を小さくすることでバックグラウンドシグナルが高くなってしまう場合は、洗浄条件の検討が必要です。

アクリルアミドゲルの平衡化

転写バッファでアクリルアミドゲルの平衡化を行うと、アクリルアミドゲル中の SDS およびタンパク質に結合している SDS の量が減るために、タンパク質とメンブレンとの疎水相互作用が促され、タンパク質のメンブレンへの吸着量を増やすことが可能です。平衡化の最適時間は、ゲルのサイズに依存します。

標準的なミニゲルの場合、15 ~ 30 分の平衡化を行うことをお勧めします。

下のグラフは平衡化の時間とタンパク質の吸着量について評価をおこなった結果です。この実験では、同じ量の BSA をサンプルとして、平衡化時間を 0 分、5 分、15 分、30 分に設定したアクリルアミドゲルを用いて、同一条件にて転写を行いました。転写に際して、一般的な操作時において、メンブレンを通り抜けてしまったタンパク質の有無の評価をするために、メンブレンは、PVDF 製 Immobilon-P (孔径 0.45 μm) とバックアップメンブレンとして、Immobilon-PSQ (孔径 0.2 μm) を重ねて使用しました。転写後、ゲルに残ったタンパク質、Immobilon-P に吸着したタンパク質および Immobilon-PSQ を通り抜けて、Immobilon-PSQ に吸着したタンパク質量を測定しました。



全タンパク質量を 100% として、アクリルアミドゲル残存率、メンブレン吸着率を表しています。

参考文献

1. Towbin H. et al., *PNAS* 1979, **76**(9), p.p.4350-4354. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications.



Millipore®

Preparation, Separation,
Filtration & Testing Products

最適なフィルターを簡単に見つかります！

マイレクスファインダー

- ✓ どれを選べばいいかわからない
- ✓ あるものを使えばいいと思っていた



そんなあなたに

いくつかの質問に答えるだけで、用途にぴったりのシリンジフィルターを簡単に選べる「マイレクスファインダー」ができました。

お気軽におためしください！

マイレクスファインダー

検索



- ・モバイル対応
- ・サンプル依頼可能
- ・発注書作成可能



ご不明な点や更に詳しい製品の説明についてのお問い合わせは取り扱い販売店もしくは弊社テクニカルサービス (jpts@merckgroup.com : 03-4531-1140) までお問い合わせください

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL : 03-4531-1140

FAX : 03-5434-4859

Email : jpts@merckgroup.com

<シグマ製品> TEL : 03-6756-8245

FAX : 03-6756-8302

Email : jpts@merckgroup.com



メルク公式アカウント
友だち追加は
コチラ



サイエンス系
お役立ちメディア
M-hub



かんたんカタログ検索
カタログ
ファインダー



メルクライフサイエンス公式 Facebook ページ
メルクライフサイエンス - Merck で検索



メルクライフサイエンス公式 Twitter アカウント
メルクライフサイエンス - Merck で検索



メルクライフサイエンス - メールニュース
www.merckmillipore.jp/wm

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格 (税別) です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2020年3月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2020 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

メルク株式会社

ライフサイエンス リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.com/bio

E-mail: jpts@merckgroup.com

Tel: 03-4531-1140 Fax: 03-5434-4859

LSM026-2003-1K-H