

アカデミックキャンペーン

期間限定

2015.11.2 ▶▶▶▶▶ 2016.2.29



最大 45% OFF



10 μg の抗体へ短時間で標識

Ab-10 Rapid Labeling Kit シリーズ NEW



Ab-10 Rapid Fluorescein Labeling Kit
3 samples

通常価格
¥24,000



キャンペーン価格
¥13,200

その他にも
キャンペーン価格あり
詳しくは

4P



フィルトレーションチューブで標識から精製まで

DOJINDO Labeling Kit シリーズ



Fluorescein Labeling Kit - NH_2
3 samples

通常価格
¥21,600



キャンペーン価格
¥17,280

その他にも
キャンペーン価格あり
詳しくは

6P



さらに、数量限定の1 sample包装もキャンペーン対象に!

1. 多重染色法における直接法活用のメリット

多重染色法は、同一の試料で複数の分子を同時に検出しその局在を比較することができるという有用な手法で、励起・蛍光波長の異なる色素の開発や、蛍光顕微鏡の高性能化も進み、多用されている実験手法である。

しかし、一般にイムノアッセイに用いられる標識二次抗体を用いた間接法では、以下のことに留意しなくてはならない。

- 1) 一次抗体として同一の動物種で作製したものを同時に使用できない。
- 2) 二次抗体は一次抗体を作製した動物とは別種の動物で作られたものを用意しなければならない。
- 3) 二次抗体は多重染色用のもの(交差反応^{*1}を防ぐために他の動物の血清で吸着処理^{*2}したもの)を使用しなければならない。
- 4) サンプルの細胞腫と同一の動物種で作製した一次抗体は、使用できない。

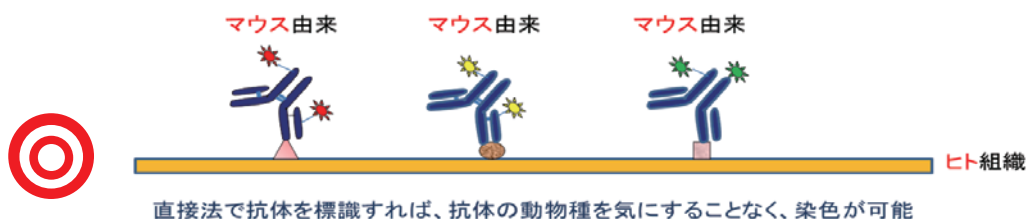
一方、一次抗体に蛍光色素などを直接標識し検出する直接法であれば、このような交差反応や二次抗体による非特異吸着を考慮する必要はなく、多重染色に適した方法といえる。

多重染色の場合

間接法



直接法なら…



※1 交差反応とは

二次抗体は一次抗体の宿主動物種に反応する抗体を選ぶが、その二次抗体が他の動物種に対しても多少反応してしまう。これを交差反応と呼ぶ。交差反応の影響を抑える方法の一つとして、吸着処理という方法がある。

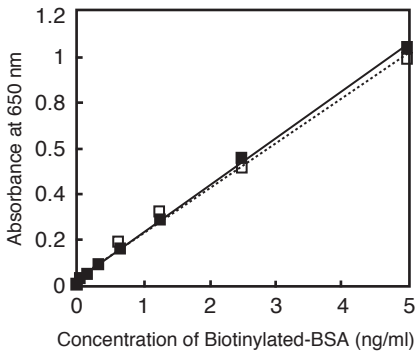
※2 吸着処理とは

予め交差反応を示す可能性のある動物の血清を固定化したビーズを充填したカラムに二次抗体溶液を添加し、それらの血清と反応する抗体をあらかじめ除く処理のこと。

2. 直接法と間接法の感度比較

一般的に、二次抗体を用いた間接法は直接法よりも感度が高いとされている。しかし弊社 Peroxidase Labeling Kit-NH₂ で標識した一次抗体を用いた直接法と、市販の HRP 標識二次抗体を用いた間接法の感度比較を行ったところ、ほぼ同等の感度を示した。

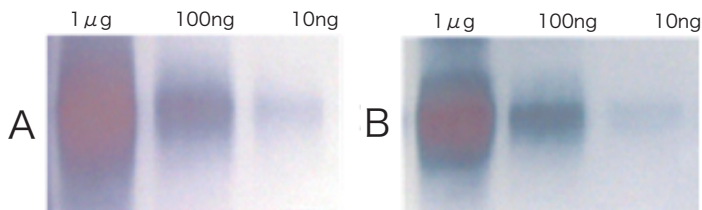
ELISA



ビオチン化 BSA の ELISA の感度比較 (TMB 発色)

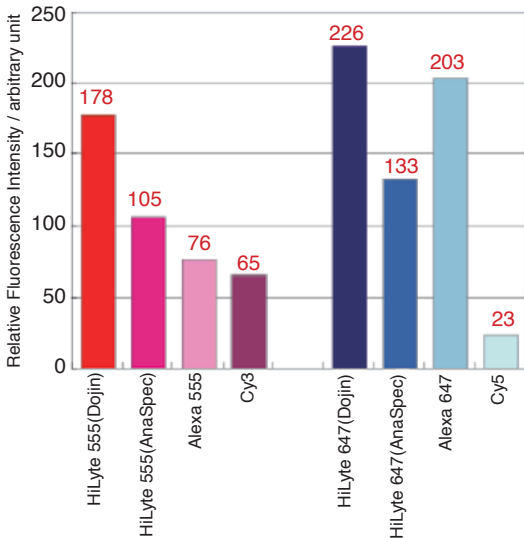
□: 直接法 (HRP 標識抗ビオチン抗体で検出)
 ■: 間接法 (抗ビオチン抗体と HRP 標識二次抗体で検出)

ウェスタンブロッティング



リン酸化チロシン BSA のウェスタンブロッティング (TMB 発色)
 A: 直接法 (HRP 標識抗リン酸化チロシン抗体で検出)
 B: 間接法 (抗リン酸化チロシン抗体と HRP 標識二次抗体で検出)

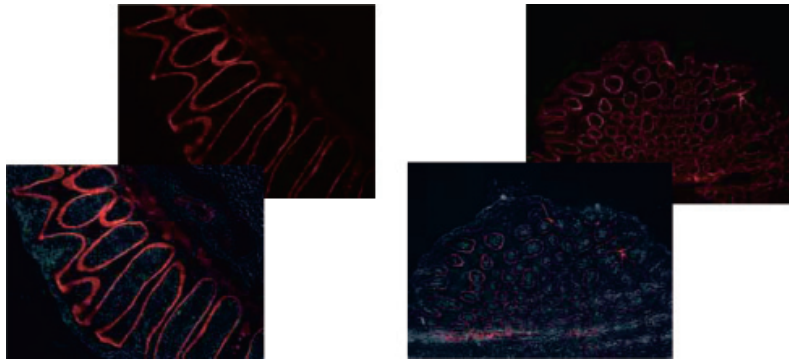
3. 各キットを用いて標識した標識体蛍光強度 (1 μg IgG / 3 ml PBS中)



4. キットを用いた免疫染色例

HiLyte Fluor™ 標識抗IV型コラーゲンα5(IV)鎖抗体を用いて、各組織の基底膜を染色。各組織のα5(IV)鎖を持つ基底膜のみ明瞭に染まっていることが確認できる。

使用抗体: IV型コラーゲンα5(IV)鎖特異的ラット単クローン抗体



ヒト横行結腸の免疫染色画像(左上)およびその位相差像との合成(左下)

使用キット: HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit - NH₂ (撮影倍率x20)

ヒト盲腸粘膜上の免疫染色画像(右上)およびその位相差像との合成(右下)

使用キット: HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit - NH₂ (撮影倍率x10)

(画像提供: 岡山大学大学院 歯学総合研究科 人体構成学分野 内藤一郎先生、重井医学研究所 佐渡義一先生)

10 μg の抗体へ短時間で標識

Ab-10 Rapid Fluorescein Labeling Kit

Ab-10 Rapid Peroxidase Labeling Kit

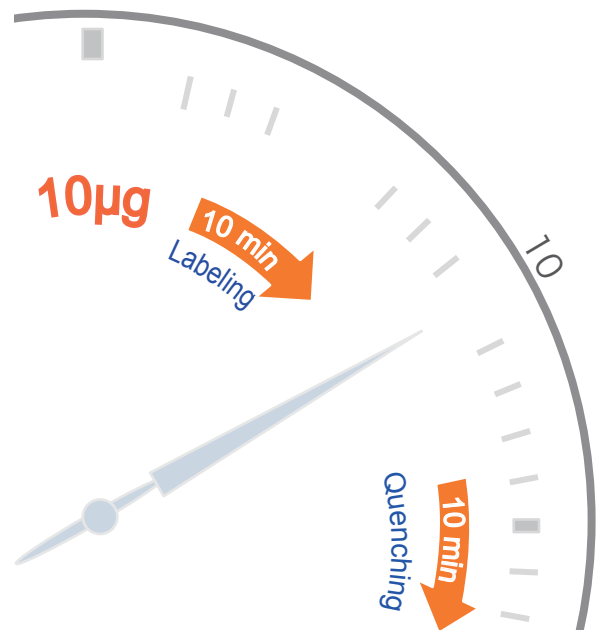
Ab-10 Rapid R-Phycoerythrin Labeling Kit

新製品

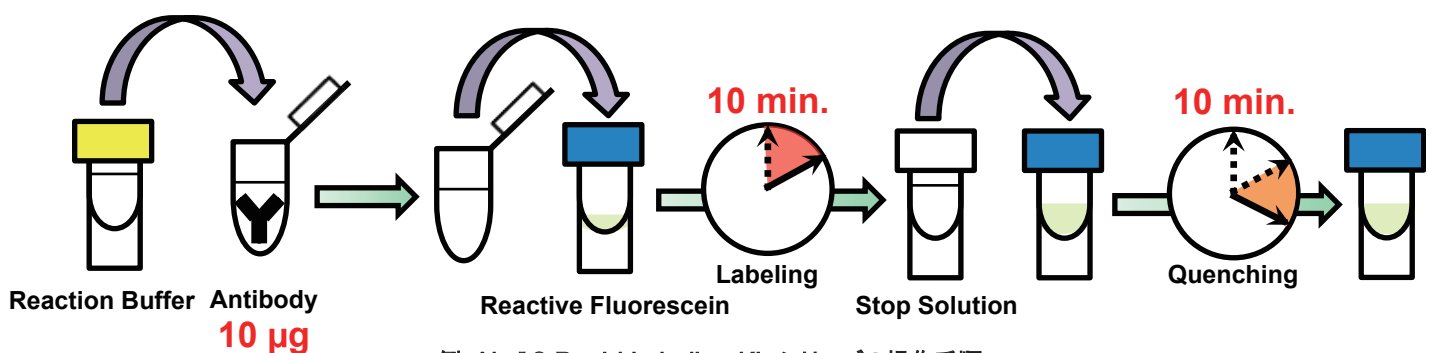
特別価格

- ・少量の抗体 (10 μg) で標識抗体を調製できる。
- ・抗体と標識剤を混ぜるだけで標識できる。
(抗体のアミノ基に標識)
- ・30分以内に標識できる。

Ab-10 Rapid Labeling Kit シリーズは、10 μg の抗体に 30 分以内に標識するためのキットです。本キットに含まれる標識剤は、活性エステル基を導入しており、抗体と混合するだけで、抗体のアミノ基と安定な共有結合を形成します。本キットには標識に必要なすべての試薬が含まれています。



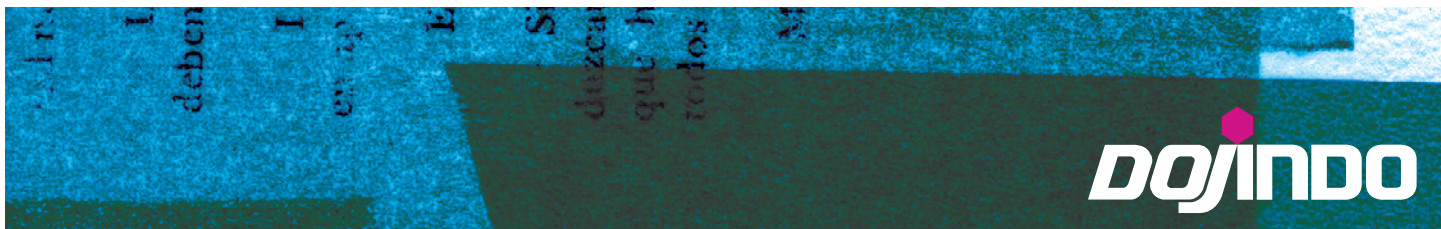
操作方法



例: Ab-10 Rapid Labeling Kit シリーズの操作手順

※本誌ではAb-10 Rapid Fluorescein Labeling Kit (品コード: LK32) で表現しております。

1. 抗体量が10 μg に相当する量の0.5 ~ 1 mg/mlに調製した抗体溶液をマイクロチューブに入れる。
2. 操作1の抗体溶液にReaction Bufferを加え、ピペッティングにより混合する。
3. 操作2の溶液をReactive Fluoresceinに加え、ピペッティングにより混合する。
4. 37°Cで10分間反応する。
5. 操作4の溶液にStop Solutionを加え、ピペッティングにより混合する。
6. 室温で10分間反応する。
7. 操作6の標識抗体を実験に用いる。または、冷蔵で保存する。



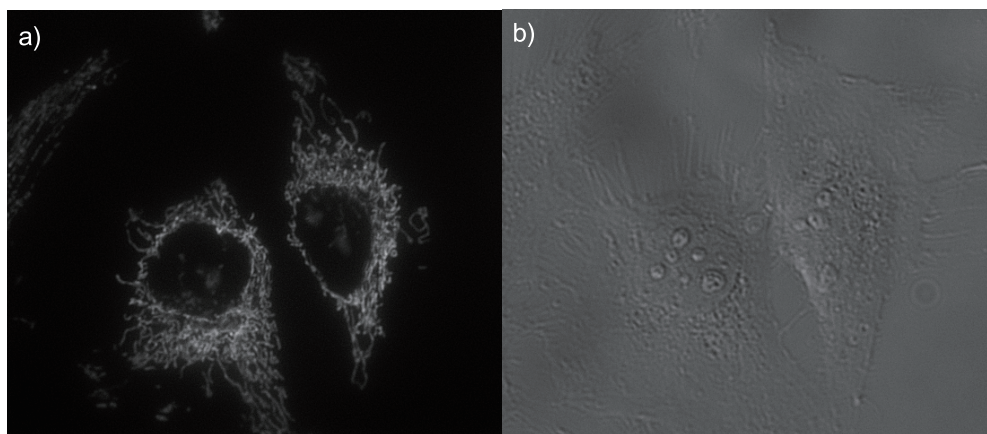
DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

特別価格

品名	容量	和光コード	メーカーコード	希望納入価格	キャンペーン価格
Ab-10 Rapid Fluorescein Labeling Kit	3 samples	343-91851	LK32	¥24,000	¥13,200
Ab-10 Rapid Peroxidase Labeling Kit	3 samples	340-91861	LK33	¥19,000	¥10,450
Ab-10 Rapid R-Phycoerythrin Labeling Kit	3 samples	347-91871	LK34	¥28,000	¥15,400

1) 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。2) 記載価格はこのパンフレット編集時(2015/10/15)における希望納入価格です。予告無しに変更する場合がございますのでご注意ください。
3) 試験・研究用です。医薬品としては使用できません。

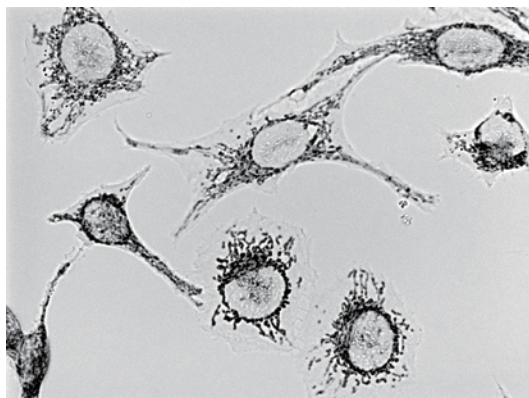
本キットで作製した標識抗体の実験例



HeLa 細胞のミトコンドリアの免疫染色画像

a) 蛍光画像 b) 明視野画像

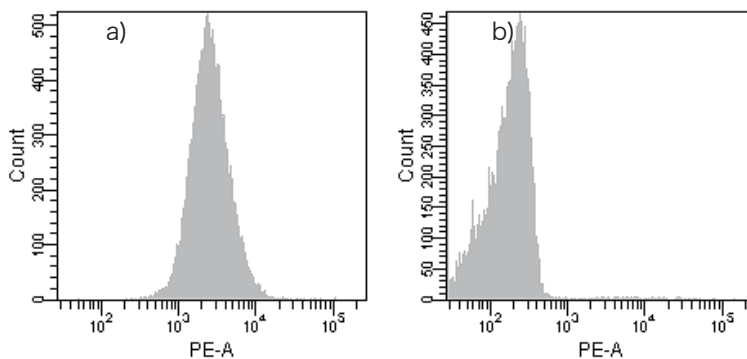
※Fluorescein標識-抗ミトコンドリア抗体を用いた。[Ab-10 Rapid Fluorescein Labeling Kit (品コード:LK32) 使用]



HeLa 細胞のミトコンドリアの免疫染色画像

※Peroxidase標識-抗ミトコンドリア抗体を用いた。

Ab-10 Rapid Peroxidase Labeling Kit (品コード:LK33) 使用

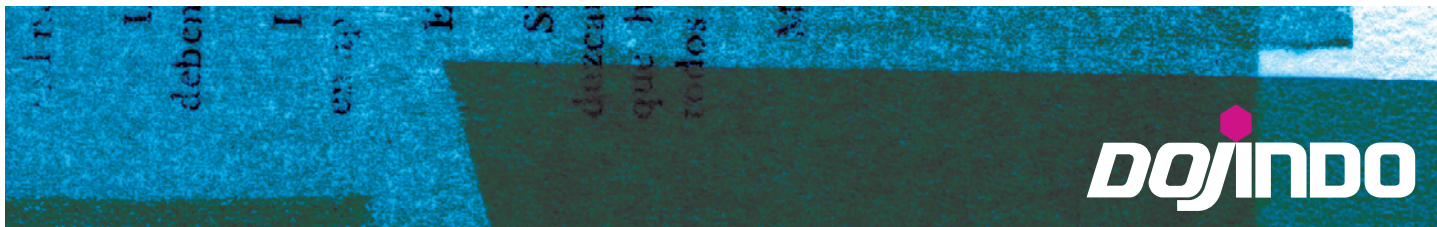


R-Phycoerythrin標識-抗CD13抗体を用いたHL60細胞の染色

a) R-Phycoerythrin標識マウス抗CD13抗体で染色

b) R-Phycoerythrin標識抗体(アイソタイプ)

※Ab-10 Rapid R-Phycoerythrin Labeling Kit (品コード:LK34) 使用



DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

タンパク質標識キットシリーズ

DOJINDO Labeling Kit

特別価格



数量限定で 1 sample 包装が登場！
さらにキャンペーン価格でよりお求めやすく！

品名	容量	コード	メーカーコード	希望納入価格(¥)	キャンペーン価格(¥)
Fluorescein Labeling Kit - NH ₂	1 sample	343-90913	LK01	9,000	8,500
Biotin Labeling Kit - NH ₂	1 sample	343-90893	LK03	5,250	5,000
Peroxidase Labeling Kit - NH ₂	1 sample	344-90823	LK11	7,500	7,000
Alkaline Phosphatase Labeling Kit - NH ₂	1 sample	349-90873	LK12	9,000	8,500

NH₂ 標識、SH 標識の操作手順

1. 簡単、迅速なラベル化キット

フィルトレーションチューブ中で3時間以内に完了

2. 高分子から低分子まで

分子量50,000以上の高分子をラベル化
酵素標識では分子量5,000以下も可能

Dojindo Labeling Kitsは活性化試薬とフィルトレーションチューブにより、抗体等を簡単に標識するためのキットです。

前処理-反応-精製まで全て一つのフィルトレーションチューブ上で行うことができ、3時間以内に標識体が得られます。

1回の標識操作で50~200 µgのサンプルを処理することができます。

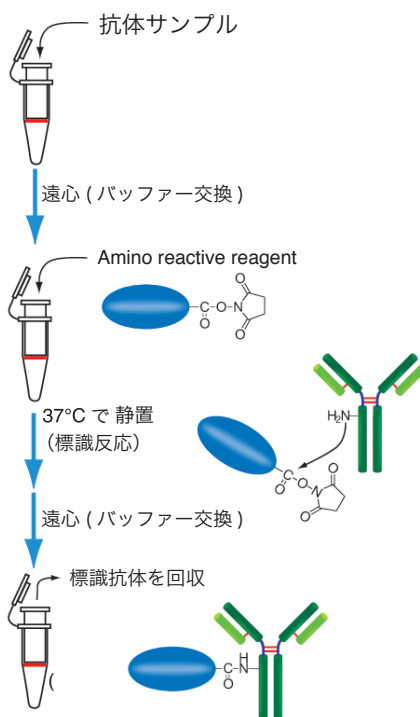
フィルトレーションチューブを用いた精製はゲルの過や透析などに比べ標識体の回収率が高く、貴重なサンプルの標識に適しています。

キットには保存溶液が付属しており、標識体を安定に保存することができます。

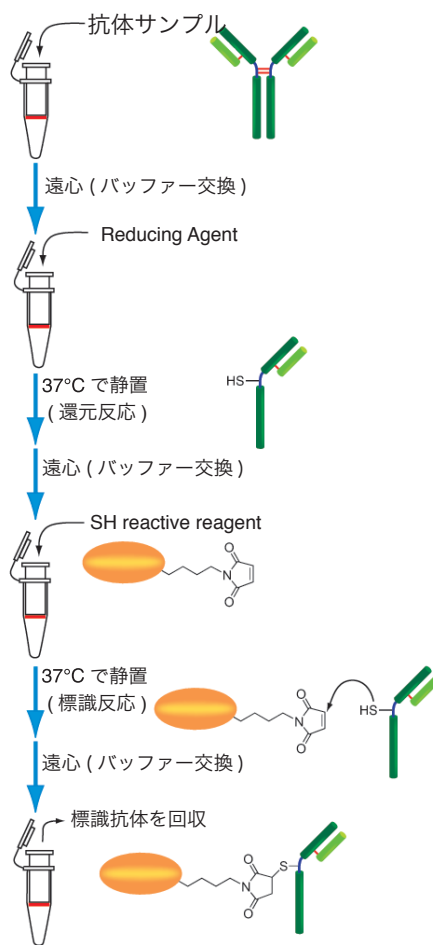
キットでは、分子量50,000以上の高分子のラベル化を行うことができます。

活性化酵素を標識するPeroxidase Labeling KitsとAlkaline Phosphatase Labeling Kitsに関しては、さらに分子量5,000以下の低分子の標識も可能です。

a) NH₂ 標識



b) SH 標識*



*ヒンジ部以外のSS結合が還元される場合があります。



Dojindo Labeling Kit のラインナップ

品名	容量	コード	メーカーコード	希望納入価格 (¥)	キャンペーン価格 (¥)
Fluorescein Labeling Kit - NH ₂	1 sample	343-90913	LK01	9,000	8,500
	3 samples	347-90911	LK01	21,600	17,280
HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit - NH ₂	3 samples	348-91041	LK14	21,600	17,280
HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit - NH ₂	3 samples	345-91051	LK15	21,600	17,280
HiLyte Fluor™ 750 Labeling Kit - NH ₂	3 samples	346-91221	LK16	49,000	39,200
ICG Labeling Kit - NH ₂	1 sample	341-91433	LK31	20,600	16,480
	3 samples	345-91431	LK31	46,400	37,120
Allophycocyanin Labeling Kit - NH ₂	3 samples	349-90971	LK21	44,200	35,360
R-Phycoerythrin Labeling Kit - NH ₂	3 samples	347-91011	LK23	44,200	35,360
Allophycocyanin Labeling Kit - SH	3 samples	346-90981	LK24	42,000	—
R-Phycoerythrin Labeling Kit - SH	3 samples	344-91021	LK26	42,000	—
Biotin Labeling Kit - NH ₂	1 sample	343-90893	LK03	5,250	5,000
	3 samples	347-90891	LK03	12,400	9,920
Biotin Labeling Kit - SH	3 samples	348-90941	LK10	12,400	9,920
Peroxidase Labeling Kit - NH ₂	1 sample	344-90823	LK11	7,500	7,000
	3 samples	348-90821	LK11	17,600	14,080
Peroxidase Labeling Kit - SH	3 samples	345-90831	LK09	17,600	14,080
Alkaline Phosphatase Labeling Kit - NH ₂	1 sample	349-90873	LK12	9,000	8,500
	3 samples	343-90871	LK12	21,600	17,280
Alkaline Phosphatase Labeling Kit - SH	3 samples	346-90861	LK13	21,600	17,280

1) 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。

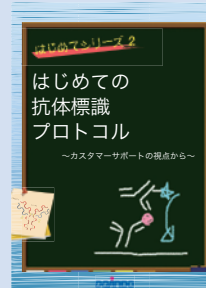
2) 記載価格はこのパンフレット編集時(2015/08/17)における希望納入価格です。予告無しに変更する場合がございますのでご注意ください。

3) 試験・研究用です。医薬品としては使用できません。

1

抗体標識に関する資料をご準備しております。
下記までご請求下さい。

請求先: 和光純薬工業株式会社
営業企画部 学術課
E-mail: labchem-tec@wako-chem.co.jp
FAX: 0120-052-806



はじめてシリーズ2 はじめての抗体標識プロトコル

直接標識法の利点や実施例などを
解りやすくまとめました。
はじめて抗体を標識される方
にご覧いただきたいプロトコルです。

関連技術紹介

1. 標識前の抗体精製法

市販の抗体には、不純物混入や失活を予防するため、安定化剤が含まれていることがある。代表的な安定化剤は、アジ化ナトリウムや BSA, ゼラチンなどである。小社の標識キットでは、低分子のアジ化ナトリウムは、取扱説明書にある最初のフィルトレーションチューブ上の洗浄工程で除去が可能である。しかし、BSA やゼラチンといった高分子は、最初のフィルトレーションチューブ上の洗浄工程で除くことはできない。このような安定化剤が含まれる抗体標品を標識する場合、抗体への標識を阻害するので、予め安定化剤を除去する必要がある (BSA 含量が 1% 程度でも、除去する必要がある)。

1) BSA の除去方法

(1) 試薬

IgG Purification Kit-A(もしくは G) (Code: AP01 もしくは AP02)

市販の抗体 200 μ g

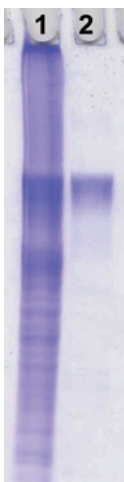
(2) 精製方法

IgG Purification Kit 添付の取扱説明書に従って、精製を行う。

2) ゼラチンの除去方法

A, B いずれかの方法で除去する。

A. コラーゲナーゼ (Collagenase) によるゼラチン分解



(1) 試薬

コラーゲナーゼ (Sigma, #C7826) 3.5 CDU/ml 希釈溶液

IgG Purification Kit-A(もしくは G) (Code: AP01 もしくは AP02)

市販の抗体 200 μ g

(2) 精製方法

- ・ 0.2% ゼラチンを含む 200 μ g/ml IgG 溶液 1 ml に酵素処理用緩衝液 (100 mmol/l HEPES, pH7.4, 0.36 mmol/l CaCl_2 含有) 420 μ l と酵素処理用緩衝液で調製した 3.5 CDU/ml コラーゲナーゼ希釈溶液 80 μ l を加えて混合する。

- ・ 37°C、3時間インキュベートした後、IgG Purification Kit-A(もしくは G) を用いて IgG を単離する。
※ IgG Purification Kit では、抗体を固定化担体に保持させる際の抗体溶液量を一回当たり 200 μ l としている。しかし、上記操作でコラーゲナーゼ処理した抗体溶液量は、約 1.5 ml となるため、IgG を担体に保持させる操作を 8 回 (200 μ l \times 7, 100 μ l \times 1) に分けて行う。

※上記の方法で得られる抗体の回収率：45 ~ 50%

図 18 ゼラチン除去精製前後の SDS-PAGE

1: ゼラチン含有 IgG 溶液

2: 精製後の IgG 溶液

B. 300K 限外ろ過チューブを用いたゼラチン除去



(1) 試薬

300K フィルトレーションチューブ

(Pall 社 ナノセップ遠心ろ過デバイス (製品コード: OD300C33))

IgG Purification Kit-A(もしくは G) (Code: AP01 もしくは AP02)

市販の抗体 200 μ g

(2) 精製方法

- ・ 0.1% ゼラチンを含む 200 μ g/ml IgG 溶液 1 ml を 300K フィルトレーションチューブ 2 本に分けて限外ろ過を行う (200 μ l \times 2, 100 μ l \times 1, 13,500 x g)。

- ・ その後、回収溶液 500 μ l を IgG Purification Kit-A(もしくは G) を用いて IgG を単離する。
※回収溶液 500 μ l に対し、IgG Purification Kit の Washing Buffer 50 μ l を添加し、精製を行う。
ゲルへの吸着操作は 5 回繰り返す。

※上記の方法で得られる抗体の回収率：35 ~ 45%

図 19 ゼラチン除去精製前後の SDS-PAGE

1: IgG

2: ゼラチン含有 IgG 溶液

3: 300K 限外濾過のみの IgG 溶液

4: 300K 限外濾過 + IgG Purification Kit - G で精製後の IgG 溶液

開発元

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

30 W Gude Dr, Suite 260, Rockville, MD 20850, U.S.A.

URL <http://www.dojindo.com>

委託製造元・国内問い合わせ先

株式会社 同仁化学研究所

TEL096-286-1515(代表) FAX096-286-1525

ドージン・イースト(東京)

TEL03-3578-9651(代表) FAX03-3578-9650

国内販売元

和光純薬工業株式会社

URL <http://www.wako-chem.co.jp>

フリーダイヤル 0120-052-099

フリーファックス 0120-052-806