

革新的な膜テクノロジーにより室温下での迅速なタンパク質操作を可能に！

Capturem™ シリーズ

(2020年2月改訂版)

Hisタグ精製

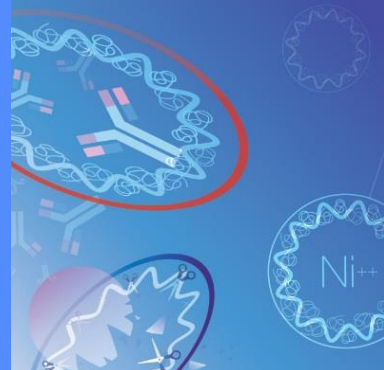
抗体精製

免疫沈降・共免疫沈降

トリプシン・ペプシン消化

ビオチン化ターゲットの精製・濃縮

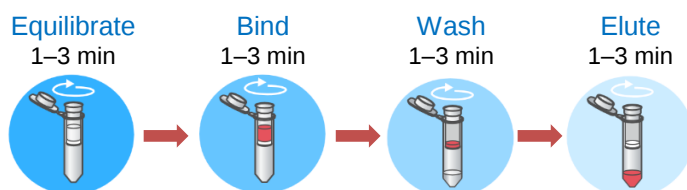
エキソソーム単離



● レジンカラムにはマネのできない使いやすさ！

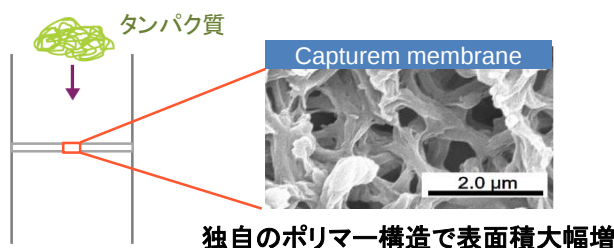
- 短時間、簡単なワークフロー
- 室温操作 OK
- ベッドボリュームが小さく高濃度溶出が可能
- 様々なフォーマット：Miniprep、Maxiprep、24 well、96 well、Large volumeをご用意

● 基本的なワークフロー：最短5分で精製完了！



Capturem™ と従来レジンカラムとの比較

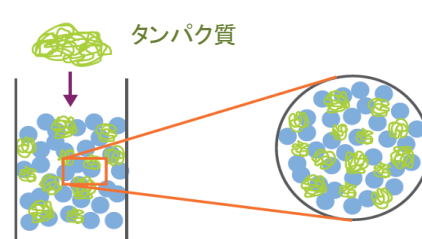
< Capturem >



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**

従来レジンカラムに比べてメリット満載です！

● Capturem™ シリーズの豊富なラインナップ

Capturemテクノロジー

精製・濃縮

- Hisタグ精製 【 Capturem™ His-Tagged Purification 】
- 抗体精製 【 Capturem™ Protein G 】
- 免疫沈降・共免疫沈降 【 Capturem™ IP & Co-IP Kit 】
- ビオチン化ターゲットの精製・濃縮 【 Capturem™ Streptavidin 】

タンパク質消化

- トリプシン消化 【 Capturem™ Trypsin 】
- ペプシン消化 【 Capturem™ Pepsin 】

細胞外小胞精製

- エキソソームなどの細胞外小胞の精製
【 Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit 】



● 製品ガイド

使用目的	製品名	フォーマット	標準的な収量	精製時間	サンプルの最大容量
Hisタグ精製	Capturem™ His-Tagged Purification	Miniprep	80 µg	5 min	850 µl
		96 well plate	80 µg	15 min	1 ml
		24 well plate	800 µg	15 min	4 ml
		Maxiprep	1.5 mg	15 min	23 ml
		Large volume	8–20 mg	30 min	500 ml
抗体精製	Capturem™ Protein G	Miniprep	60 µg	5 min	850 µl
ビオチン化ターゲットの精製・濃縮	Capturem™ Streptavidin	Miniprep	20 µg IgG ※1	5 min	850 µl
		96 well plate	20 µg IgG ※1	15 min	1 ml
トリプシン・ペプシン消化	Capturem™ Trypsin	Miniprep	20 µg IgG ※2	5 min ※3	850 µl
		96 well plate	20 µg IgG ※2	15 min ※3	1 ml
	Capturem™ Pepsin	Miniprep	20 µg IgG ※2	5 min ※3	850 µl

※1 : 4,000 pmol free biotin ※2 : 80 µg protein ※3 : Excludes denaturation/reduction/alkylation time

● Capturem™シリーズを使った実験フロー例



● Capturem™に関するQ&A

Q1 Capturemプレートとカラムは再使用可能か？

A1 Capturem製品は使い捨てとして設計されており、再使用のテストは実施していないためお勧めいたしません。

Q2 膜に結合したタンパク質や抗体のほとんどを回収するために何回の溶出が必要か？

A2 溶出の回数は、タンパク質の種類に依存します。Hisタグのキットでは通常1～2回、Protein Gシリーズとストレプトアビジン(例: Ab-Ab capture)のキットでは2～3回の溶出が必要となります。

Q3 Capturemプレートとカラムの保存条件は？

A3 Capturem製品は室温で保存できます。

Q4 プレートとカラム添加前にサンプルの清澄化作業は必要か？

A4 遠心による清澄化をおすすめします。もし目詰まりが起こった場合は、ポアサイズが1.2 µmより小さいフィルター(例: 0.8 µmのろ過ユニット)を用いてろ過することをお勧めします。

Q5 Capturemメンブレンが使用可能なpH範囲は？

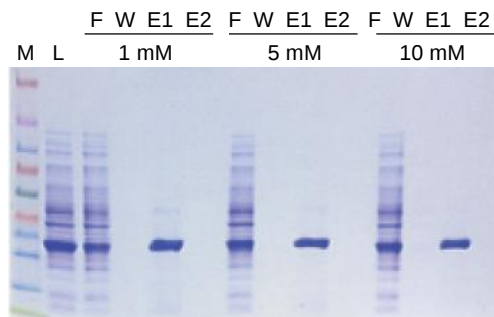
A5 Capturemメンブレンは高安定性のナイロン系メンブレンで、pH1～13で安定です。Capturem製品の至適pH範囲は、各メンブレンの特定の官能基に依存し、それぞれのProtocol-At-A-Glanceに明記しています。例えば、Protein GシリーズではpH5をお勧めしています。

● Hisタグ融合タンパク質精製

Capturem™ His-Tagged Purification

- 哺乳類細胞やバクテリアサンプルに対応
- 変性剤や添加剤の存在下、様々なバッファー等の幅広い条件下でも優れた性能を発揮
- 添付のxTractor Bufferに加えて、他のLysis Bufferにも適合

■ 添加剤(EDTA)の影響



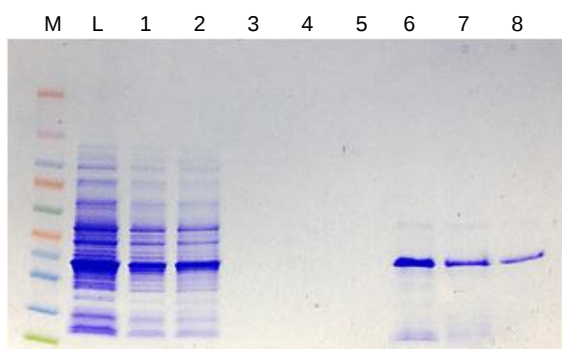
Sample	Amount of Eluate 1
1 mM EDTA	139 µg
5 mM EDTA	112 µg
10 mM EDTA	98 µg

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

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

EDTAの存在下でも高純度な精製を行うことができた。

■ 変性剤(尿素、グアニジン)の影響



Capturem His-Tagged Purification Miniprep Kitを用いて、8 M尿素または6 Mグアニジン塩酸塩存在下でHisタグ融合GFPuvタンパク質を精製した。スピニングカラムに800 µlの菌体ライセートを加え、非変性または変性条件下で精製した。変性条件下では、サンプルおよび各バッファーに8 M尿素または6 Mグアニジン塩酸塩を添加した。

変性剤の存在下でも高純度な精製を行うことができた。

M: Marker L: Lysate
 1: Flowthrough (control) 2: Flowthrough (urea)
 3: Wash (control) 4: Wash (urea) 5: Wash (guanidine)
 6: Eluate (control) 7: Eluate (urea) 8: Eluate (guanidine)

■ Bufferへの添加が可能な試薬一覧

試薬	濃度
MOPS	200 mM
HEPES	200 mM
Tris	200 mM
EDTA	10 mM
β-mercaptoethanol	30 mM
DTT	10 mM
TCEP	5 mM
Guanidine-HCl	6 M
Urea	8 M

試薬	濃度
Nonionic detergent (Triton X-100)	2%
Nonionic detergent (Tween 20)	2%
Anionic detergent (SDS)	1%
Arginine	500 mM
Glycine	100 mM
Histidine	20 mM
Sodium chloride	2 M
Imidazole	40 mM
Glycerol	10%

■ 使用文献のご紹介

- Kawase, T., Miura, F., Debnath, A., Imakura, K. & Miyoshi, S. Functional analysis of N-terminal propeptide in the precursor of *Vibrio vulnificus* metalloprotease by using cell-free translational system. *Protein Expr. Purif.* **149**, 13–16 (2018).
- Kariminejad, A. et al. Novel mutations and a severe neurological phenotype in Sjögren-Larsson syndrome patients from Iran. *Eur. J. Med. Genet.* **61**, 139–144 (2018).
- Kong, M., Wang, F., Tian, L., Tang, H. & Zhang, L. Functional identification of glutamate cysteine ligase and glutathione synthetase in the marine yeast *Rhodospiridium diobovatum*. *Sci. Nat.* **105**, 4 (2018).
- Nakamura, M. et al. Functional characterization of unique enzymes in *Xanthomonas euvesicatoria* related to degradation of arabinofurano-oligosaccharides on hydroxyproline-rich glycoproteins. *PLoS One* **13**, e0201982 (2018).

● 抗体精製／免疫沈降・共免疫沈降

Capturem™ Protein G

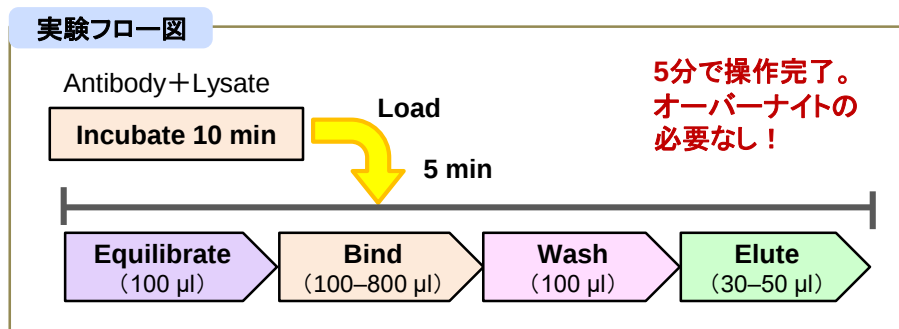


- 動物血清や培養液などを希釈したサンプルをロードし、幅広い生物種の抗体を精製可能

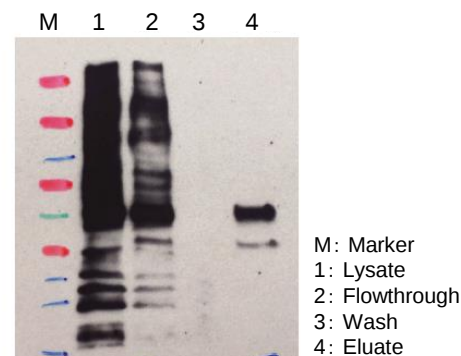
Capturem™ IP & Co-IP Kit

- カラムとバッファーが含まれた完全キット
- 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
- 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分で精製が完了する簡単・迅速なワークフロー
- 操作時間が短いため、タンパク質凝集や複合体解離、また活性低下を抑制

■ Capturem™ IP & Co-IP Kitを用いた免疫沈降

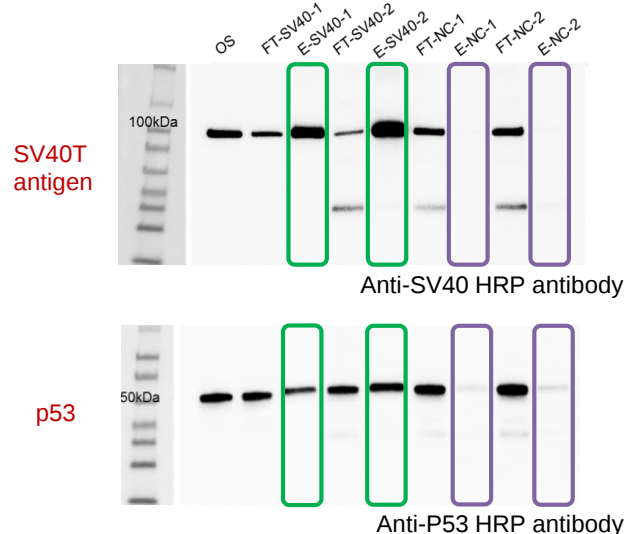


5分で操作完了。
オーバーナイトの
必要なし！



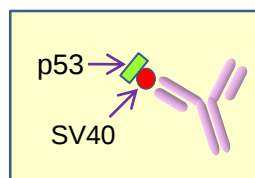
PP2A B subunit

■ 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)

■ プロテインAとプロテイン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	+	-	+		IgG3	+++	+++	+++
	IgD	-	-	-	Rat	Total IgG	+	++	++
	IgA1	+	-	+		IgG1	+	++	++
	IgA2	+	-	+		IgG2a	-	+++	+++
	Fab	+	+	+		IgG2b	-	+	+
	scFv	+	-	+		IgG2c	+++	+++	+++
					Rabbit	Total IgG	+++	+++	+++

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

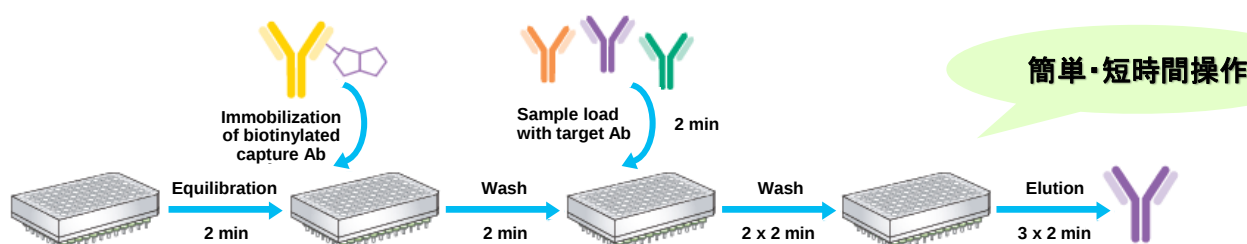
● ビオチン化ターゲットの精製・濃縮

Capturem™ Streptavidin

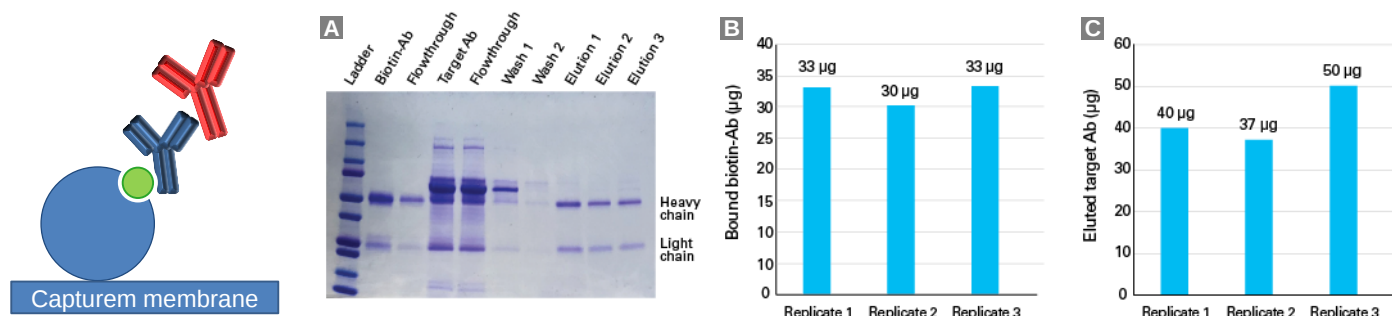
- ウェル間のバラつきが少なく、再現性が高い
- ディスポーザブルで、コンタミネーションやキャリーオーバーの心配がない
- 操作時間が短いため、サンプルの凝集、複合体の解離、活性低下を抑制

■ サンプルごとのロード可能量と96 well plateのワークフロー

サンプル	Biotin-antibody	Biotin-BSA	Biotin-ssDNA	Free biotin
ロード可能量	20–40 µg	> 15 µg	1,000–1,500 ng	> 4,000 pmol



■ Capturem™ Streptavidinを用いた抗体回収例 (triplicateで実施)

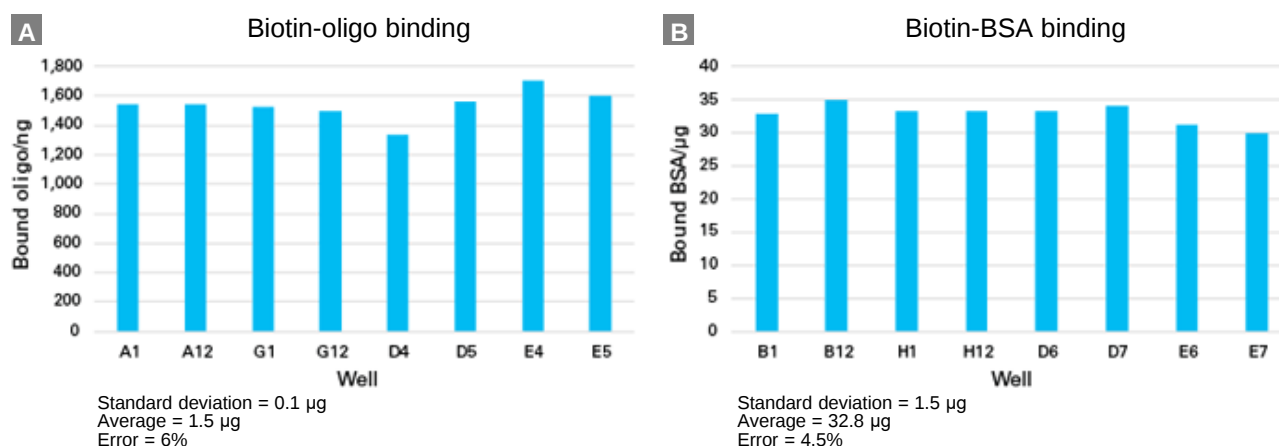


48 µgのビオチン化ウサギ IgG / 200 µl Binding Bufferを、平衡化済みのCapturem Streptavidinカラムに加えて遠心した。その結果、 32.0 ± 1.4 µgのビオチン化ウサギ IgG (♥) がメンブレンに結合した (Panel B)。

次に、カラムを一度洗浄後、目的抗体 (抗ウサギ IgG ヤギ抗体 ~100 µg, ♥) を含む20% マウス血清添加ハイブリドーマ培地をBinding Bufferで希釈し、カラムに加えて遠心した。続いてBinding BufferとPBSでカラムを一度ずつ洗浄し、1.0 M glycineで目的抗体を3回溶出した。

目的抗体の収量は 42 ± 5 µgで、**高純度な抗体が回収できた** (Panel A、Panel C)。

■ Capturem™ Streptavidin 96-Well Plateの再現性



ビオチン化オリゴヌクレオチド、ビオチン化BSAについて、それぞれ8つのreplicateを作成し、Capturem Streptavidin 96-Well Plateに遠心法で結合させた。カラムに加える前後のサンプルをO.D測定によって定量し、カラムへの結合量を求めた (Panel A: ビオチン化オリゴヌクレオチド、Panel B: ビオチン化BSA)。Capturem Streptavidin 96-Well Plateの標準プロトコールは、15分以内で実施することができる。

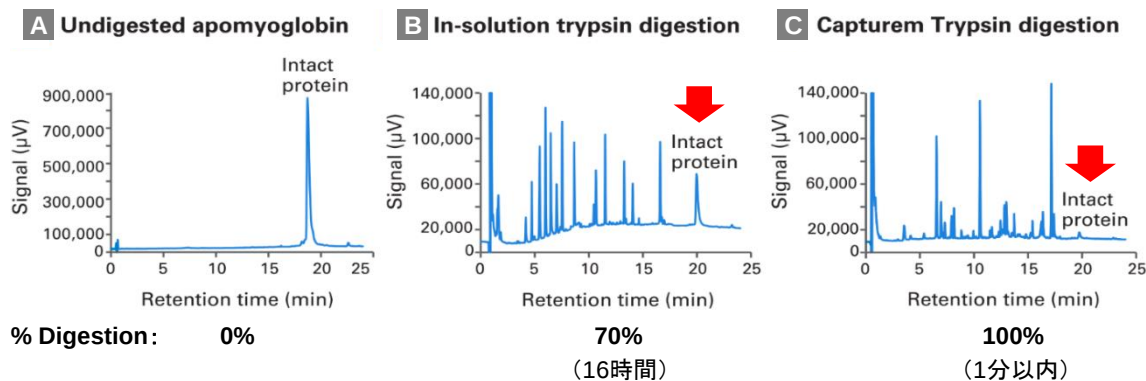
ウェル間での差は少なく、高い再現性が得られた。

● トリプシン・ペプシン消化

Capturem™ **Trypsin** (Mass Spectrometry Grade) / Capturem™ **Pepsin**

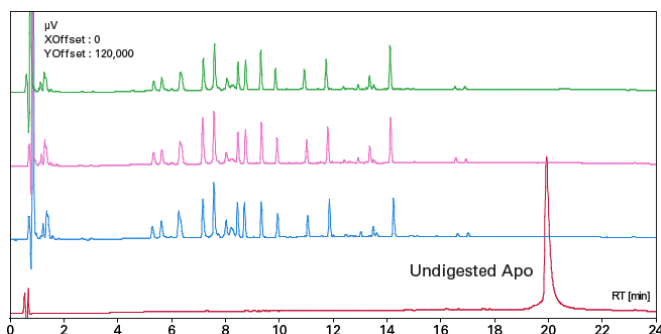
- ・プロテオミクス解析に有用 ... MS解析用サンプルを効率よく調製可能
- ・数分以内にサンプルを完全消化 ... 長時間の反応は不要
- ・トリプシンまたはペプシンを固定化したスピンカラム ... 溶液中での反応に比べて効率的で確実
- ・操作時間が短いため、自己消化やタンパク質修飾を抑制

■ Capturem™ Trypsin (On Column)と溶液内消化(In-solution)の比較データ



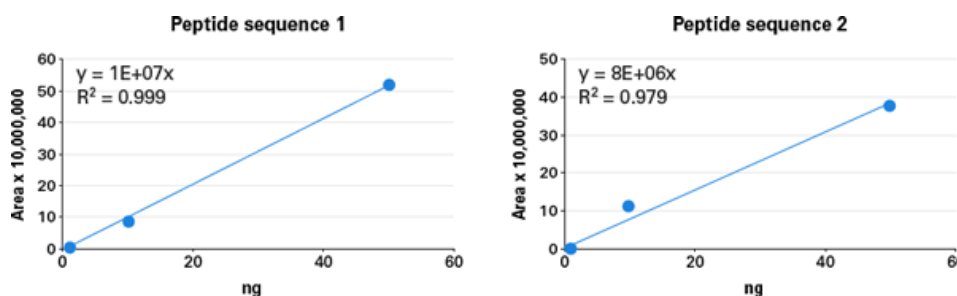
Capturem™ Trypsinにより、迅速・完全に目的タンパク質を消化できた。

■ Capturem™ Trypsinによるnative条件でのアポミオグロビン(80 μg)のTrypsin消化のHPLC



native条件で80 μgのアポミオグロビンをCapturem Trypsinを用いてトリプシン消化を行った結果、**再現性のあるHPLCプロファイルが得られた。**

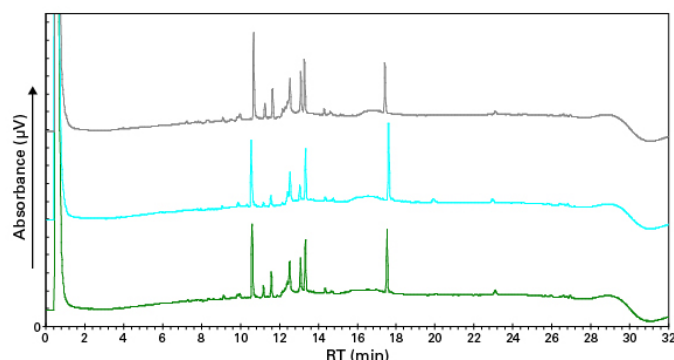
■ Capturem™ Trypsinで消化したSILuLiteの定量



Capturem Trypsinで1 ng、10 ng、50 ngのSILuLiteの消化を行った結果、検出可能なペプチドが得られた。

特定のペプチドの収量は、サンプル量による相関が見られた。

■ Capturem™ Pepsinによるペプシン消化 【HPLCによるLot間の比較】



アポミオグロビン 50 μgを5%ギ酸で希釈し、異なる3ロットのCapturem Pepsinカラムで処理した。HPLC分析の結果、全てのロットで同様に切断されたフラグメントが検出され、ロット間の差は認められなかった。

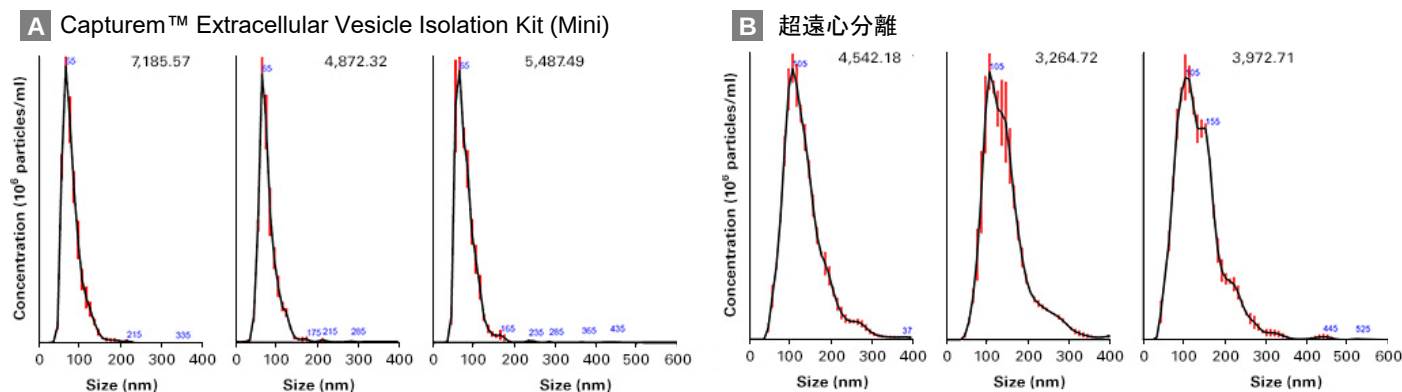
高い再現性が認められた！

● エクソソームなどの細胞外小胞の精製

Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit

- 最大850 μ lの生体液サンプルや細胞培養上清から、高純度に濃縮された細胞外小胞を30分以内に分離
- カルネキシンやアルブミンなど非エクソソームタンパク質の混入がなく、エクソソーム陽性マーカーを発現している細胞外小胞を取得
- カラムあたり最大で 10^{10} 個の細胞外小胞を回収可能
- 精製された細胞外小胞は、透過型電子顕微鏡(TEM)によって典型的な形態を示す

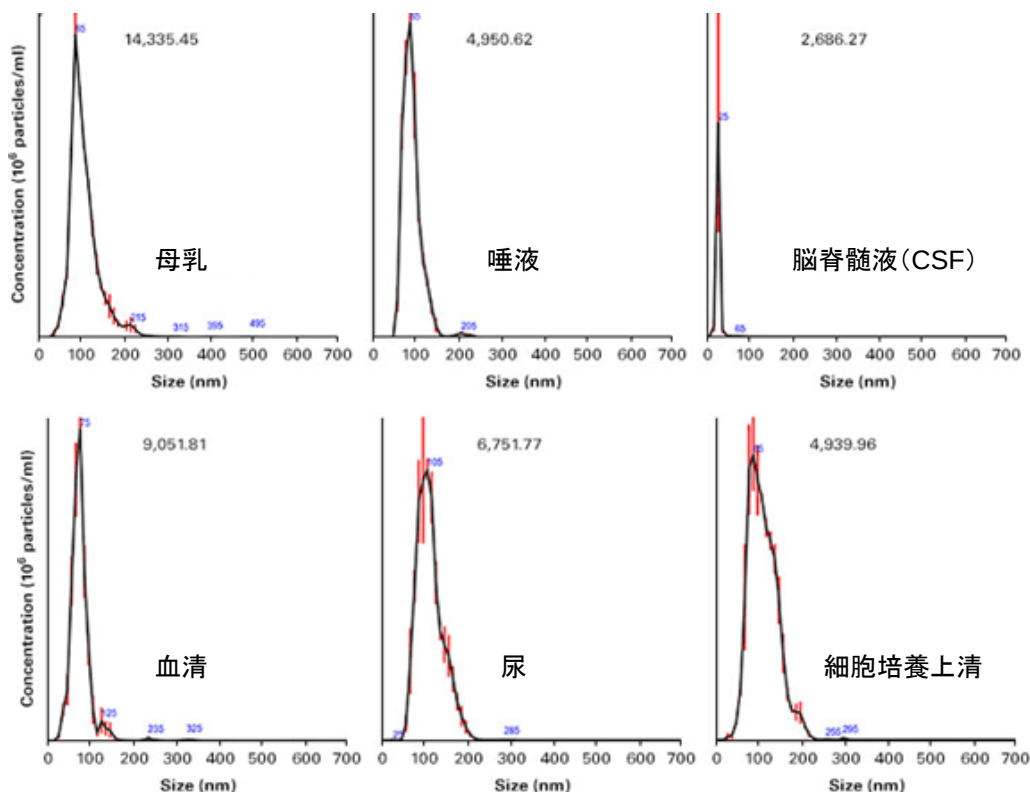
■ 回収された細胞外小胞のサイズ分布の超遠心分離との比較



Capturem Extracellular Vesicle Isolation Kit (Mini) または超遠心分離によって、500 μ lの血漿からN=3で細胞外小胞を分離し、ナノ粒子トラッキング解析(NTA)を行った。サイズ分布の平均を黒線、標準誤差を赤線で示した。

Capturem™は超遠心分離よりサイズ分布の範囲が狭く、一般的な細胞外小胞体のサイズ範囲内となっており、超遠心分離より高純度に分離されていることが示された。

■ 様々なサンプルからの細胞外小胞の抽出例



本キットを用いて母乳、唾液、脳脊髄液(CSF)、血清、尿、細胞培養上清から細胞外小胞を分離し、ナノ粒子トラッキング解析(NTA)を行った。サイズ分布の平均を黒線、標準誤差を赤線で示した。

全てのサンプルから細胞外小胞が分離できており、Capturem™の有用性が示された。

● 製品リスト

製 品 名	容 量	製品コード	価格(税別)
Hisタグ精製			
Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit	20回	635710	¥40,000
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Kit	6回	635713	¥53,000
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Columns	25本	635715	¥134,000
	50本	635719	¥220,000
Capturem™ His-Tagged Purification Large Volume	4回	635724	¥81,000
Capturem™ His-Tagged Purification 96-Well Plate	96 well plate × 1	635714	¥75,000
Capturem™ His-Tagged Purification 24-Well Plate	24 well plate × 1	635730	¥76,000
抗体精製／免疫沈降・共免疫沈降			
Capturem™ Protein G Miniprep Columns	10本	635725	¥40,000
Capturem™ IP & Co-IP Kit	12回	635721	¥40,000
ビオチン化ターゲットの濃縮・精製			
Capturem™ Streptavidin Miniprep Columns	20本	635733	¥63,000
Capturem™ Streptavidin 96-Well Plate	96 well plate × 1	635734	¥114,000
トリプシン・ペプシン消化			
Capturem™ Trypsin Miniprep Kit (Mass Spectrometry Grade)	20回	635740	¥46,000
Capturem™ Trypsin 96-Well Plate (Mass Spectrometry Grade)	96 well plate × 1	635737	¥96,000
	96 well plate × 4	635736	¥301,000
Capturem™ Trypsin Activation Buffer	50 ml	635739	¥9,000
Capturem™ Pepsin Miniprep Kit	20回	635728	¥46,000
エキソソームなどの細胞外小胞の精製			
Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit (Mini)	20回	635741	¥99,000

Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kitのサンプル品(容量 2回)を
好評配布中です。
お申込みはウェブサイトから！



・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。
・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。
・本パンフレットに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。
・本パンフレット記載の価格は2024年2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。

2024年2月修正N

タカラバイオ株式会社

取扱店

東日本支店・西日本支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
関西支店・営業第2部 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 <https://www.facebook.com/takarabio.jp>