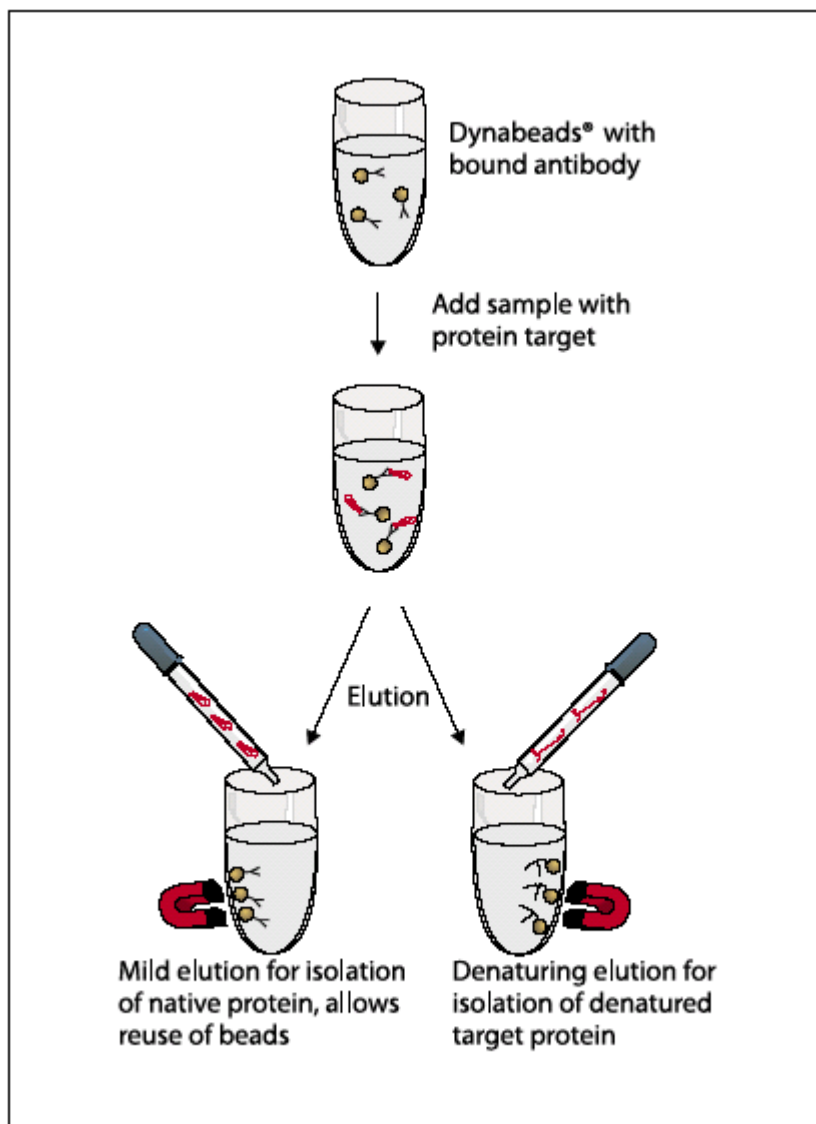


Dynabeads を用いたタンパクの免疫沈降法

免疫沈降法（IP）は、サンプル溶液中から目的のタンパクを、その目的タンパクに対する抗体を用いて精製する手法です。サンプル中からある 1 種類のタンパクだけを取り出す、細胞抽出液中に存在するタンパク複合体の精製など、工夫によって様々な実験への応用が可能です。

Dynabeads を用いた免疫沈降には、セファロースビーズを用いる方法と比較して多くのアドバンテージがあります。ここでは、Dynabeads を用いて免疫沈降を行うメリットについてご紹介します。



抗体を結合した
Dynabeads に、
目的タンパクを含む
サンプルを加えて
インキュベート
（10 分間程度）

磁石で beads-タンパク
複合体を集めて洗浄後、
目的タンパクを溶出

Figure.1

Dynabeads によってキャプチャーされた目的タンパク（Dynabeads タンパク複合体）は、磁気分離によりサンプル液中から簡単に分離することができます。この Dynabeads タンパク複合体を洗浄したあと、ビーズから溶出させ、ウエスタンブロット法や質量分析（MS）を行うことができます。

Dynabeads のメリット

効率が高い

最小限の操作ステップによりサンプルのロスが少なく、分離は数分で完了します。
遠心ではなく、磁石を使ってビーズをチューブの側壁に集めるため、夾雑物を巻き込むことがありません。また、スケールは自由に変えられます。

再現性が高い

Dynabeads の最大の特徴である「滑らかな表面」と「均一なサイズ」により (Figure.2)、非特異結合が最小限に抑えられ、高い再現性を示します。

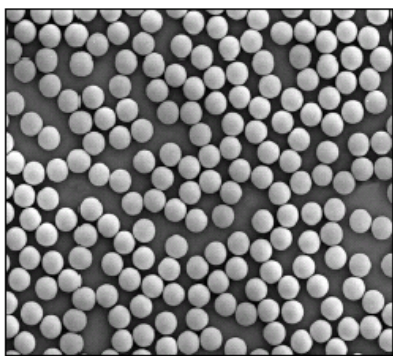


Figure.1

目的のタンパクにやさしい

Dynabeads による磁気分離では、セファロースビーズと異なり遠心の操作は一切なく、全工程通して 1 本のチューブ内での作業です。目的タンパクやサイズの大きなタンパク複合体もネイティブな形を保って分離することができます。

自動化への応用が可能

Dynabeads による免疫沈降法のアプリケーション例

目的タンパクの検出・定量・分子量決定

タンパク相互作用の研究

目的タンパクの濃縮

目的タンパクの発現量の研究

セファロースビーズと Dynabeads の比較

OKT-9 抗体を結合した Dynabeads およびセファロースビーズで、放射性同位体で標識したトランスフェリン受容体 (TfR) の免疫沈降を行い、7.5% SDS-PAGE を行った後のオートラジオグラフィー像 (Figure.3)

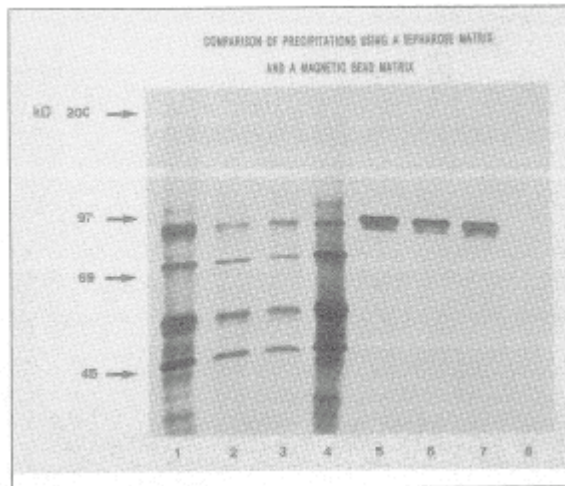


Figure.3

Lane 1~4 Protein G セファロースビーズ

Lane 5~8 Dynabeads sheep anti-mouse IgG1

<説明>

Lane 1 と 5 : Pre-clearing * なしで免疫沈降を行った場合。Dynabeads では、Pre-clearing なしでも、最初からきれいに目的のタンパクを精製できている。

Lane 2 と 6 : 1 回 Pre-clearing を行ったあと、免疫沈降を行った場合。

Lane 3 と 7 : 2 回 Pre-clearing を行ったあと、免疫沈降を行った場合。

セファロースビーズでは Pre-clearing を 1 回あるいは 2 回おこなっても、バックグラウンドが残り、目的タンパク以外のバンドも複数見える。

Lane 4 と 8 : Pre-clearing に使用したビーズから、非特異的に結合したタンパクを溶出させたもの。セファロースビーズでは、非常に多くの非特異的タンパクが見られるが、Dynabeads ではまったく見えない。

* Pre-clearing とは、抗体を結合する前のビーズにサンプルをあらかじめ反応させ、非特異的に結合するタンパクを吸着させる作業です