Dynabeads Co-Immunoprecipitation Kit 使用方法

注：この説明書は、英文添付文書の簡易訳です。最新の情報は英文マニュアルでご確認ください。
英文マニュアルは以下のページよりダウンロード可能です。
https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FLSG%2Fmanuals%2Fdynabeads_coimmuno_man.pdf

内容:

コード No.	品名	梱包単位	保存温度	輸送温度
DB14321	Dynabeads™ Co-Immunoprecipitation Kit	> 60 mg	冷蔵（2-8℃）	冷蔵

必要な器具・試薬:

- Dynabeads 専用マグネット
  例・DynaMag-2 (コード No. DB12321)、DynaMag-SPIN (コード No. DB12320)
- ローテーターまたはチューブミキサー
- 使用する抗体
- 実験系により必要な器具・試薬:
  - 冷凍融解に用いる機器
  - 塩化ナトリウム（例：1M NaCl）
  - ジチオスレイトール（例：1M DTT）
  - 塩化マグネシウム（例：1M $MgCl_2$）
  - 酢酸カリウム（例：1M KOAc）
  - Tween-20
  - Triton X-100
  - EDTA 以外のプロテアーゼインヒビター

1. 準備:

- **抗体の準備：**
  - 免疫沈降法、共免疫沈降法などの使用の際、カップリング反応時に推奨する抗体量は、通常 1 mg の Dynabeads あたり 5~7 µg です。
  - アッセイによっては飽和状態の抗体量が必要になる場合がありますが、過剰な抗体量は非特異的な抗体と標的でないタンパク質の相互作用を増加させる可能性があります。
  - 抗体サンプルに含まれる夾雑物を除去するため、カップリング反応前に 4℃、16,000 × g で 10 分間遠心分離することを推奨します。
- **抗体の選択**
  抗体の選択はターゲットとの結合力に非常に重要です。**すべての抗体が免疫沈降に使用可能な訳ではない事に注意してください。**例えば、Western Blotting用の抗体は、免疫沈降や共免疫沈降に適さない場合があります。Dynabeadsとの結合性は、同一の種類、ターゲットに対して作られた抗体であってもpI、抗原結合親和性、および安定性で差が出るため、カップリング効率は抗体により変化します。
- **抗体の添加物**
  アジ化ナトリウム（NaN_3）
  多くの市販の抗体は防腐剤としてNaN_3が含まれています。NaN_3の存在は抗体のカップリング効率をわずかに下げる可能性がありますが（< 10%）、ほとんどのアプリケーションでは問題になることはありません。カップリング反応に使用する抗体量を増加するか、カップリング前にゲル濾過クロマトグラフィーか透析によりNaN_3を除去しても構いません。
  抗体安定化タンパク
  市販の抗体にはBSAやゼラチンなどのタンパクが添加されている場合がありますが、カップリング反応中のタンパクの総量がDynabeadsのキャパシティーを超えていなければ、添加タンパクの存在は抗体のカップリング効率に影響はありません。添加タンパクは、カップリング反応中に抗体と共にビーズの表面に結合します。BSAやゼラチンの場合、ブロッキング効果を示す場合もありますが、タンパク相互作用に影響を及ぼす場合もあります。
  グリセロール
  抗体溶液中にグリセロールが含まれている場合、抗体がビーズに結合しても抗体の機能に影響を及ぼす場合があります。

2. 操作方法：

2.1　Dynabeads M-270 Epoxy と抗体とのカップリング

1 日目

1. 表 1 を参考に、Dynabeads M-270 Epoxy を必要量だけ正確に秤量します。
   注意：未使用の Dynabeads は、湿気により抗体とのカップリングに必要な反応基が失活する原因となるため、**開封前に Dynabeads が室温になっていることを確認してください。**

表 1.　抗体と C1 の計算表

Dynabeads (mg)	分量（μL）			
	抗体（Ab）	C1	C2	トータル量
5	V	250 - V	250	500
10	W	500 - W	500	1000
20	X	1000 - X	1000	2000
40	Y	2000 - Y	2000	4000
60	Z	3000 - Z	3000	6000

トータル量はビーズ 1 mg あたり 100 μL 用意し、(C1+Ab)と C2 の量は等量にします。

2. Dynabeads に 1mL の **C1** を加え、ピペッティングかボルテックスにより良く混ぜます。

3. チューブを磁石上に置いてビーズをチューブの壁に集めた後、上清を除去します。

4. 表 1 を参考に、Dynabeads に適切な量の抗体と C1 を加え、ピペッティングかボルテックスにより良く混ぜます。

5. 表 1 を参考に、適切な量の **C2** を加え、ピペッティングかボルテックスにより良く混ぜます。

6. ローテーター等で撹拌しながら 37℃で一晩（16 時間～24 時間）インキュベートします。チューブ内の溶液が混合されている事を確認し、Dynabeads が 1 か所に留まらないようご注意ください。インキュベーション中に Dynabeads が動いていないと、Dynabeads と抗体とのカップリング効率が低下します。

2 日目

7. チューブを磁石上に置いてビーズをチューブの壁に集めた後、上清を除去します。

表 2.　カップリング反応後に必要なバッファー量

Dynabeads (mg)	分量（μL）			
	HB	LB	SB	SB (保存用)
5	800	800	800	500
10	800	800	800	1000
20	1600	1600	1600	2000
40	1600	1600	1600	4000
60	1600	1600	1600	6000

8. 表 2 を参考に 0.8 mL または 1.6 mL の HB を加え、ピペッティングかボルテックスにより良く混ぜた後、チューブを磁石上に置いてビーズをチューブの壁に集め、上清を除去します。

9. 表 2 を参考に 0.8 mL または 1.6 mL の LB を加え、ピペッティングかボルテックスにより良く混ぜた後、チューブを磁石上に置いてビーズをチューブの壁に集め、上清を除去します。

10. 表 2 を参考に 0.8 mL または 1.6 mL の SB を加え、ピペッティングかボルテックスにより良く混ぜた後、チューブを磁石上に置いてビーズをチューブの壁に集め、上清を除去します。

11. 表 2 を参考に 0.8 mL または 1.6 mL の SB を加え、ピペッティングかボルテックスにより良く混ぜた後、ローラーかローテーターで、室温で 15 分間インキュベートします。チューブを磁石上に置いてビーズをチューブの壁に集め、上清を除去します。

12. カップリング反応に使用した総量と等量の SB を加えて懸濁し、使用するまで 4℃で保存します。この段階でのビーズの濃度は 10mg/mL となります。抗体とビーズは共有結合し、これで共免疫沈降を行う準備が完了となります。

    必要に応じて、抗体をコートしたビーズは SB の添加量を減らすことで 30mg/mL まで濃度を高くしても構いません。長期保存には、最終濃度が 0.02%になるよう NaN_3 を添加します。

    注意：すべての抗体が長期保存後に活性を維持するとは限りません。共免疫沈降実験を行う前に、スモールスケールで抗体をコートしたビーズの安定性をご確認ください。

2.2　共免疫沈降

2.2.1　共免疫沈降に必要な細胞量

Western blotting または銀染色による検出

0.05 ~ 1.5 g の細胞サンプルと、1.5 mg の抗体をコートした Dynabeads (Dynabeads 1mg あたり 5~7 µg の抗体を反応させたもの)をご用意ください。

Coomassie 染色による検出または質量分析解析

1 ~ 15 g (場合によっては 25 g) の細胞サンプルと、7.5 mg の抗体をコートした Dynabeads をご用意ください。細胞サンプルの量が変わっても抗体結合ビーズの使用量は一定であることに注意してください。

2.2.2　共免疫沈降に用いるバッファー

このキットに含まれる共免疫沈降バッファーは、非特異結合を最小限に抑えながらそのままのタンパク複合体を分離できるよう最適化されています。

5×IP

共免疫沈降により目的のタンパク複合体を分離する際に、細胞をExtraction Bufferで懸濁します。
Extraction Bufferは、キットに含まれる5×IPを用いて作製できます。5×IPは5倍濃縮液となっており、1 gの細胞から40回分、または7.5 gの細胞から8回分の共免疫沈降に十分な量があります。
再現性のある結果を得るためには、細胞とExtraction Bufferの比率が1 : 9になるよう都度調製します（細胞の重さは、できる限り水分を除去した状態で計測してください)。

最も効果的な共免疫沈降を行うために、Extraction Bufferの組成は目的のタンパク複合体ごとにご検討ください。Extraction Buffer中に塩や界面活性剤が高濃度に存在すると、一般的に共免疫沈降の効率が低下します。非特異結合を最小限に抑えながらタンパク複合体をそのまま分離するには、Extraction Bufferのストリンジェンシー（塩、界面活性剤濃度など）を調整する必要があります。
5×IP バッファーは使用前に1×に希釈します。この段階では、IPバッファーに添加物を加えてストリンジェンシーを変更することができます。

5×LWB

抗体をコートしたDynabeadsで共免疫沈降したタンパク複合体を溶出する前に、Last Washing Buffer (LWB)で一度ターゲットが結合したビーズを洗浄します。キットに含まれる5×LWBは、LWBの5倍濃縮液です。5×LWBは使用前に1倍に希釈します。パフォーマンスを最適化するために、最終濃度が0.02%になるようTween-20を添加します。LWBにより、直接質量分析のために分離したタンパク複合体を溶液中で消化、あるいはDNAまたはRNA結合タンパク複合体の免疫沈降後の核酸抽出ができます。

EB

タンパク複合体の溶出のために、キットに溶出バッファー（EB）が含まれています。
質量分析を目的としたラージスケールでタンパク複合体を単離する場合、NH_4OHをベースとしたバッファー(**HPH EB**、6ページ参照)で溶出後、遠心濃縮機によりサンプルを乾燥させることをお勧めします。

2.2.3　バッファー添加物の注意事項

塩・界面活性剤

ほとんどの塩と界面活性剤は、Extraction Buffer の調製に利用できます。

プロテアーゼインヒビター
プロテアーゼインヒビターは添加することを推奨します。ほとんどのプロテアーゼインヒビターは使用可能ですが、**EDTA は多くのタンパク複合体と相性が悪いため、使用しないことをお勧めします。**多くのアプリケーションでは 0.1M PMSF を 200～500 倍希釈（最終濃度：0.2～0.5 mM）で充分です。

ジチオスレイトール(DTT)
還元剤である DTT は、最大 1 mM まで添加することが可能です。**1 mM 以上の DDT 存在下では、抗体をコートした Dynabeads と抗体の結合が不安定になります**（例：抗体の重鎖と軽鎖間のジスルフィド結合や、抗体と Dynabeads 表面の間の結合を壊すなど)。また、タンパク複合体を壊す可能性があります。

2.2.4　Extraction Buffer の最適化
一般的な共免疫沈降には、**Extraction Buffer A**（1×IP, 100 mM NaCl, 適量のプロテアーゼインヒビター）が使用できます。しかし、大きいまたは不安定なタンパク複合体の共免疫沈降には、Extraction Buffer を最適化することが最も重要です。 Extraction Buffer を最適化する方法につきましては、英文プロトコル(30 ページ)をご参照ください。

2.3　細胞サンプルの準備

2.3.1　共免疫沈降に使用するサンプルの準備
共免疫沈降に用いるサンプル準備の最適条件は、使用するサンプルの種類と分離したいタンパク複合体の種類によります異なります。多くの場合、界面活性剤を使用した細胞の破壊で充分です（セクション 2.3.2 参照)。**しかし、より大量の細胞処理や、不安定なタンパク複合体を分離したい場合は、細胞を Cryolysis することを強くお勧めします**（セクション 2.3.3 参照)。液体窒素により破砕を行っている間も、不安定な複合体を安定化します。Cryolysis のプロトコルは全ての細胞のタイプに使用可能です。

2.3.2　界面活性剤を用いた細胞の Lysis 方法　(哺乳類培養細胞サンプルのみ)
界面活性剤を用いて細胞を溶解したサンプルは、溶解後すぐに共免疫沈降操作に進めてください。細胞を溶解する前に、抗体を結合させた Dynabeads と、共免疫沈降に使用するバッファーが準備できていることを確認してください。

1. “2.2.4”で条件検討した Extraction Buffer を準備します。必要に応じて、DTT とプロテアーゼインヒビターの濃度を調整します。Extraction Buffer を最適化する方法につきましては、英文プロトコル(30 ページ)をご参照ください。

2. 細胞を PBS で洗浄します。4℃、200~500×g で 5 分間遠心分離し、できるだけ上清を除去します。

3. 細胞と Extraction Buffer の比率が 1:9 になるように（例：50 mg の細胞に対し、450 µL の Extraction Buffer を添加)、プロテアーゼインヒビターを含む Extraction Buffer を添加します。よく懸濁した後、氷上で 15 分間インキュベートします。

4. 細胞核とデブリを除去するため、4℃、2,600×g で 5 分間遠心分離します。

5. 上清を新しいチューブに移します。この後、すぐに共免疫沈降ステップに移行してください。

2.3.3 Cryolysis 方法　(すべての細胞サンプルに共通)
プルダウン実験を複数回したい場合には、一度に大量の細胞サンプル処理することも可能です。
酵母またはバクテリアを培養した培地 6 L から~20 g の細胞を回収するためには、OD_{600} の値が~0.8 程度に達するまで培養してください。HEK293 細胞を培養した培地 8 L から~12 g の細胞を回収するためには、対数期（log phase）後期に達するまで培養してください。細胞の凍結操作をする際には、全てのバッファーおよび細胞は氷上に置いてください。**組織検体を凍結保存する場合は、サンプルの重量を測り、液体窒素で急冷します。**

培養細胞の超冷凍保存方法

1. 酵母またはバクテリアを培養した培地 6 L、あるいは哺乳類または昆虫細胞を培養した細胞培地 8 L から遠心により細胞を回収します。酵母またはバクテリアは 4℃、400×g で 10 分間、哺乳類または昆虫細胞は 4℃、500×g で 10 分間遠心します。哺乳類または昆虫細胞は、2 を省略して 3 に進みます。

2. (酵母またはバクテリアのみ) 50 mL の H_2O で細胞を洗浄します。4℃、2,600×g、5 分間遠心し、上清を除去します。

3. 細胞の量に合わせて 20 mM K-HEPES (pH7.4)で洗浄します。酵母またはバクテリアの場合は 4℃、2,600×g で 15 分間、哺乳類または昆虫細胞の場合は 4℃、500×g で 10 分間遠心し、上清をできるだけ除去します (K-HEPES バッファーにプロテアーゼインヒビター、1 mM DTT を添加しも構いません)。

4. 酵母またはバクテリアの場合は 4℃、2,600×g で 15 分間、哺乳類または昆虫細胞の場合は 4℃、500×g、10 分間遠心します。上清をできるだけ除去した後細胞ペレットをほぐします。

5. ヘラ等を使用して細胞をシリンジに詰め、シリンジで液体窒素を満たした 50 mL チューブに入れます。細胞は「麺状」に凍結されます。一部の哺乳類細胞で小さな塊状となる場合もありますが、このまま凍結させても構いません。

6. チューブからできるだけ液体窒素を流し出します。蓋を緩く閉め、使用まで-80℃で保管してください。この状態で細胞は数か月間保存可能です。

破砕による細胞（培養細胞、組織検体）の Cryolysis 方法

本方法を用いる事で、大量の培養細胞や組織検体を準備することが可能です。詳細は「英文プロトコル」をご覧ください。本プロトコルでは、Retsch Plantary Ball Mill PM 100 または Mixer Mill MM301 (いずれも Retsch 社製) を使用した場合の設定が記載されています。破砕した細胞は、共免疫反応の使用前まで-80℃で保存します。

共免疫沈降に用いる細胞のホモジナイズ

操作開始前に、抗体をコートしたビーズと共免疫沈降に必要なバッファーが用意されているか確認ください。

1. 使用直前に Extraction Buffer を準備します。必要であれば、DTT とプロテアーゼインヒビターの濃度も調節します。

2. 液体窒素で冷却した 50 mL チューブ中にある、破砕済み細胞の重さを正確に量ります。細胞を「アイスクリーム状」になるまで溶解します。50 mL チューブ 1 本あたり、2.5 g 以上の細胞を入れないでください。2.5g 以上の細胞サンプルの場合は、サンプルを複数のチューブに分けてください。

3. 細胞と Extraction Buffer の比率が 1:9 になるように Extraction Buffer を添加し、30 秒間ボルテックスしよく懸濁します。

4. 4℃、2,600×g で 5 分間、細胞ライセートを遠心分離します。

5. 上清をきれいなチューブに移します。この後、すぐに共免疫沈降操作に移行してください。

2.4 共免疫沈降プロトコル

2.4.1 Western Blottingまたは銀染色により検出する場合

Western Blotting または銀染色により検出するための共免疫沈降に関しては、細胞サンプル 0.05~1.5 g に対して、1.5 mg の抗体をコートしたビーズの使用を推奨します。細胞サンプルの量に関わらずビーズの量は一定であることに注意してください。

1. 共免疫沈降に必要なバッファーを用意します。
   a) ターゲットに合った条件の **Extraction Buffer** を 1 反応あたりおよそ 2 mL 用意します。抗体をコートしたビーズを、NaN_3 を含む溶液で保存していた場合、さらに 1 反応あたり 2.7 mL 用意します。
   b) **Last Wash Buffer** (LWB; 0.02 % Tween-20 を含む 1×LWB)を 1 反応あたり約 200 μL 調製します。

キットに含まれる 5×LWB を 5 倍希釈し、Tween-20 を 0.02 %になるように添加します。

2. 新しいチューブに 1.5 mg 分の抗体コート済の Dynabeads を移します。

3. チューブを磁石に置き、チューブの壁面にビーズを集めて、上清を除去します。NaN_3 を含む溶液でビーズを保存していた場合は、完全に NaN_3 を除去するため 900 μL の Extraction Buffer でさらに 3 回洗浄します。

4. “3”で洗浄したビーズに、溶解（セクション 2.3.2 参照）あるいは破砕（セクション 2.3.3 参照）した細胞を懸濁します。

5. ローラーまたはローテーター上で、4℃でインキュベートします。一般的にインキュベート時間は 10~30 分をお勧めします。1 時間以上のインキュベートは非特異結合のリスクを増やす可能性があります。ただし、親和性の低い抗体の場合は 1 時間以上のインキュベートが必要なこともあります。

6. 磁石上にチューブを置き、チューブの壁にビーズを集めて上清を除去します。

7. 200 μL の Extraction Buffer を添加し、静かにピペッティングしてビーズを洗浄します。この際、ビーズとタンパク複合体の結合を壊す恐れがあるため、**ボルテックスはしないでください。**

8. 磁石上にチューブを置き、チューブの壁にビーズを集めて上清を除去します。

9. “7”と”8”を 2 回繰り返し、ビーズの洗浄を計 3 回行います。

10. 200 μL の LWB でビーズを洗浄します。静かにピペッティングした後、ローラーまたはローテーター上で、室温で 5 分間インキュベートします。

11. ビーズを含む溶液を、きれいなチューブに移します。

12. 磁石上にチューブを置き、チューブの壁にビーズを集めて上清を除去します。

13. ビーズに 60 μL の EB を加えて懸濁し、ローラーまたはローテーター上で、室温にて 5 分間インキュベートします。

14. 磁石上にチューブを置き、チューブの壁にビーズを集めます。

15. 上清をきれいなチューブに移します。**この上清に精製した目的のタンパク複合体が回収されます。**

2.4.2 Coomassie染色により検出する場合

Coomassie 染色により検出するための共免疫沈降には、細胞サンプル 1 g~15 g に対し 7.5 mg の抗体をコートした Dynabeads を使用します。細胞サンプルの量に関わらずビーズの量は一定であることに注意してください。さらに、ラージスケールの実験では、揮発性の **HPH EB** (0.5 M NH_4OH, 0.5 mM EDTA) でサンプルを溶出し遠心濃縮機で乾燥させた後、全量をまとめてゲル解析しても構いません。

1. 共免疫沈降に使用するバッファーを用意します。
   a) ターゲットに合った条件の **Extraction Buffer** を 1 反応あたり約 4 mL 用意します。抗体をコートしたビーズが NaN_3 を含む溶液で保存されていた場合、さらに 1 反応あたり 2.7 mL 用意します。
   b) **Last Wash Buffer (LWB)**を、セクション 2.4.1 と同様に 1 反応あたり約 1 mL 用意します。”13”の操作を行う場合は、さらに 3 mL の Tween-20 フリーの 1×LWB を用意します。
   c) **HPH EB** を 1 反応あたり 1 mL 調製します（用時調製)。

HPH EB の調製方法

	最終濃度	添加量
14.8N NH_4OH	0.5 M	338 μL
EDTA	0.5 mM	
H_2O		
計		10 mL

2. 新しいチューブに 7.5 mg 分の抗体コート済の Dynabeads を移します。

3. 900 μL の Extraction Buffer でビーズを洗浄します。チューブを磁石上に置き、チューブの壁にビーズを集めて上清を除去します。

4. “3”で洗浄したビーズに、溶解（セクション 2.3.2 参照）あるいは破砕（セクション 2.3.3 参照）した細胞を懸濁します。細胞サンプル量が 2.5 g 以上になる場合は、サンプルを複数のチューブに分けます。

5. ローラーまたはローテーター上で、4℃で 30 分間インキュベートします。一般的にインキュベート時間は 10~30 分をお勧めします。1 時間以上のインキュベートは非特異結合のリスクを増やす可能性があります。ただし、親和性の低い抗体の場合は 1 時間以上のインキュベートが必要なこともあります。

6. 磁石上にチューブを置き、チューブの壁にビーズを集めて上清を除去します。

7. 900 μL の Extraction Buffer を加え、静かにピペッティングしてビーズを洗浄します。この際、ビーズとタンパク複合体の結合を壊す恐れがあるため、**ボルテックスはしないでください。**

8. 磁石上にチューブを置き、チューブの壁にビーズを集めて上清を除去します。

9. “7”と”8”を 2 回繰り返し、ビーズの洗浄を計 3 回行います。

10. 900 μL の LWB を加え、静かにピペッティングしてビーズを洗浄します。ローラーまたはローテーター上で、室温で 5 分間インキュベートします。タンパク複合体が解離する可能性があるため、5 分以上のインキュベートはしないでください。

11. ビーズが入った溶液をきれいなチューブに移します。

12. 磁石上にチューブを置き、チューブの壁にビーズを集めて上清を除去します。

13. **オプション 1**：
    質量分析法による直接分析など向けに単離したタンパク複合体を消化するためには、Tween-20 フリーの 900 μL の LWB でさらに 3 回洗浄します。静かにピペッティングをして混ぜた後、すぐにチューブを磁石上に置き、上清を除去します。その後 ”14” に進みます。
    オプション 2：
    単離したタンパク複合体から DNA または RNA を抽出する場合は、「2.4.3 分離した DNA/RNA 結合タンパク複合体から核酸を抽出する場合」に進みます。

14. ビーズを 500 μL の HPH EB で懸濁し、ローラーまたはローテーター上で、室温で 20 分間インキュベートします。

15. 磁石上にチューブを置き、チューブの壁にビーズを集め、上清（溶出液）を新しいチューブに移します。**この上清に精製した目的のタンパク複合体が回収されます。**

16. ビーズを 500 μL の HPH EB で懸濁し、ローラーまたはローテーター上で、室温で 10 分間インキュベートします。上清を先に回収した溶出液が入ったチューブに移します。

17. 熱や光を避けて、遠心濃縮機を使用して溶出液を一晩乾燥させます。乾燥したタンパクは、SDS-PAGE でサンプルをアプライする前にサンプルバッファーで溶かすことができます。

2.4.3 分離したDNA/RNA結合タンパク複合体から核酸を抽出する場合

「2.4.2. Coomassie 染色により検出する場合」の”13”から続けて行います。

13. ビーズを 500 μL の LWB (Tween-20 含有の有無にかかわらず）で懸濁した後、5 μL の 10% SDS、5 μL の 20 mg/mL プロテアーゼ K を添加し、55℃で 30 分間インキュベートします。

14. 500 μL のフェノール：クロロホルム：イソアミルアルコールを入れ、30 秒ボルテックスして 16,000×g で 2 分間遠心します。

15. 上層を新しいチューブに移し、5 μL の 20 mg/mL グリコーゲン、サンプル溶液に対して 0.1 倍量の 3M 酢酸ナトリウム、2.5 倍量の 100% エタノールを添加します。-20℃で 1 時間程インキュベートします。

16. 4℃、16,000×g で 15 分間遠心分離します。

17. 上清を注意深く除去します。ペレットを 500 μL の 70% エタノールで洗浄します。

18. 4℃、16,000×g で 5 分間遠心分離します。

19. 上清を除去した後ペレットを空気乾燥させ、目的の量のRNase/DNase-free H_2Oで再溶解します。

2.5 共免疫沈降に使用するバッファーの組成

	ストック溶液	1×溶液
5×IP	Buffering Salts (pH 7.4) 550 mM KOAc 2.5% Triton X-100	Buffering Salts (pH 7.4) 110 mM KOAc 0.5% Triton X-100
5×LWB	Buffering Salts (pH 7.5)	Buffering Salts (pH 7.5)
EB		Buffering Salts (pH 2.8)

注意事項

- 未使用のDynabeadsは、湿気により抗体とのカップリングに必要な反応基が失活する原因となるため、**開封前にDynabeadsが室温になっていることを確認してください。**
- Dynabeadsと抗体とのカップリング反応は、ローテーター等で撹拌しながら実施し、チューブ内の溶液が混合されている事を確認してください。インキュベーション中にDynabeadsが動いていないと、カップリング反応効率が低下します。

株式会社ベリタス 〒105-0013 東京都港区浜松町 1-18-16 住友浜松町ビル 6F
TEL 03-5776-0078 FAX 03-5776-0076
技術的なお問い合わせは：TEL 03-5776-0040 E-mail Tech_support@veritastk.co.jp