

プロテインA, プロテインG, プロテインL

プロテインA、プロテインG、プロテインLは、抗体に特異的に結合する細菌由来のタンパク質です。主に抗体精製、免疫沈降、免疫検出に利用されています。これら抗体結合タンパク質は、動物種や抗体のサブタイプによって、異なる親和性を示します。そのため、目的のサンプルに適した抗体結合タンパク質を選ぶことが重要です。TCIではプロテインA、プロテインG、プロテインLの各種コンジュゲート体をラインナップしています。用途に合わせてご利用ください。

プロテインA

プロテインAは、*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌)の細胞壁に存在するタンパク質で、ヒト、ウサギ、マウス、ウシなど様々な動物種のIgGのFc領域に特異的に結合します。TCIのプロテインAは遺伝子改変を行った変異体で、温和なpH条件(pH 4.0)で抗体と解離させることが可能です。抗体結合親和性には変わりがないことから、通常のプロテインAと同様にご利用いただけます。

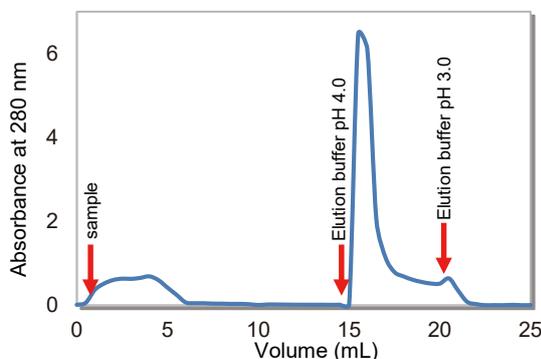
Protein A Recombinant, expressed in <i>Escherichia coli</i>	5mg/vial 12,000円 [P2366]
Protein A Biotin Conjugate	1mg/vial 12,000円 [P2407]
Protein A HRP Conjugate	0.2mg/vial 12,000円 [P2466]
Protein A Agarose	2mL/vial 28,000円 [P2461]

P2461によるヒトIgGの精製

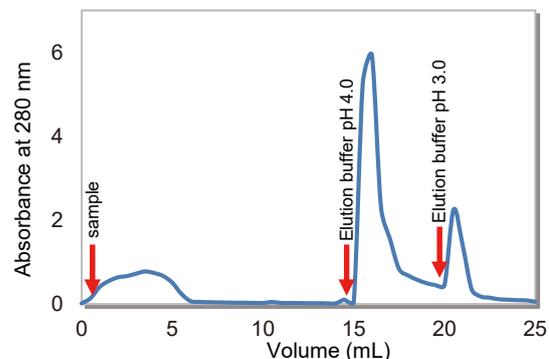
共有結合法によりプロテインAをアガロース樹脂に結合させたプロテインAアガロースは、抗体の精製や免疫沈降法に利用することができます。プロテインAアガロースを用いた抗体精製では、通常抗体溶出にpH 2.5-3.0の酸性緩衝溶液を用います。しかし従来のプロテインAアガロースでは溶出時に抗体が酸変性を起こし、高次構造が変化します。その結果凝集が起こる可能性があり、失活する抗体もあるといった問題点があります。TCIのプロテインAアガロース [P2461]は遺伝子改変を行ったプロテインA変異体を用いており、図で示したように、多くの抗体が酸変性を起こさない温和な条件 (pH 4.0) でほとんどの抗体を溶出することが可能です。

精製手順

1. カラムにプロテインAアガロース [P2461]を充填し、結合バッファーで平衡化する。
2. ヒトIgGを添加する。
3. 結合バッファーで樹脂を洗浄後、pH 4.0とpH3.0の溶出バッファーで抗体を溶出する。



プロテインAアガロース [P2461]によるヒトIgG精製



他社のプロテインAアガロースによるヒトIgG精製

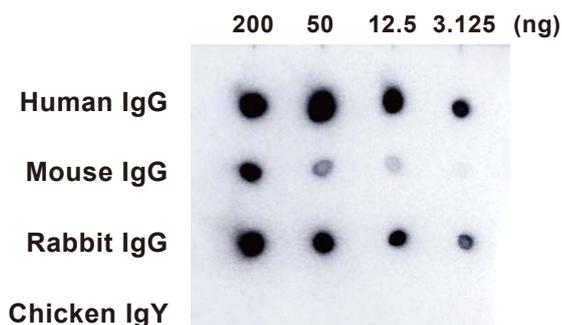
P2461を用いてヒトIgGを精製した場合、ほとんどの抗体がpH 4.0で溶出されました。

プロテインG

プロテインGは、Group G *Streptococci* strain (G群溶血連鎖球菌)の細胞壁に存在するタンパク質です。免疫グロブリン (特にIgG)のFc領域に特異的に結合し、Fabフラグメントとも弱く結合します。

Protein G Recombinant, expressed in <i>Escherichia coli</i>	1mg/vial 10,000円 [P2808]
Protein G Biotin Conjugate	0.2mg/vial 12,000円 [P2959]
Protein G HRP Conjugate	0.2mg/vial 12,000円 [P2962]

ドットプロット法を用いたP2962による各種IgGの検出



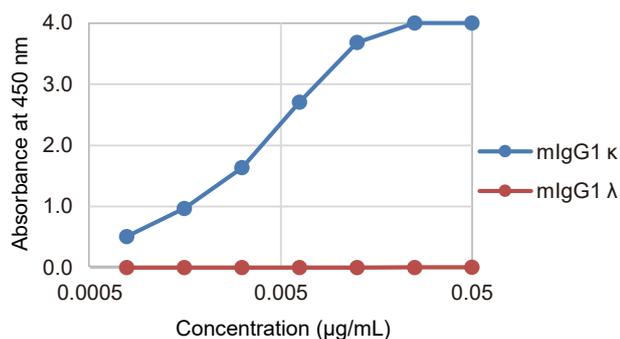
1. ヒトIgG、マウスIgG、ウサギIgG、ニワトリIgYを200ngから4倍希釈でPVDF膜に滴下する。
2. 60分間室温でブロッキングする。
3. Protein G HRP Conjugate [P2962]を5,000倍希釈し、60分間室温で反応させる。
4. 化学発光法で検出する。

プロテインL

プロテインLは、*Peptostreptococcus magnus*の細胞壁に存在するタンパク質です。プロテインLは免疫グロブリンのκ軽鎖と特異的に結合します。プロテインAやプロテインGとは異なり重鎖には結合しないため、κ軽鎖を含むあらゆる免疫グロブリンのアイソフォーム (IgG、IgM、IgA、IgE、IgD)と結合できます。またκ軽鎖をもつ一本鎖抗体(scFv)やFabフラグメントとも結合することが出来ます。プロテインAやプロテインGに結合しない免疫グロブリンの検出にご利用ください。

Protein L Recombinant, expressed in <i>Escherichia coli</i>	1mg/vial 15,000円 [P3059]
Protein L Biotin Conjugate	0.2mg/vial 15,000円 [P2998]
Protein L HRP Conjugate	0.2mg/vial 15,000円 [P2999]

P2999によるκ軽鎖の検出



1. マウスIgG κとIgG λをELISAプレートにコートする。
2. 2時間室温でブロッキングする。
3. プロテインL HRP コンジュゲート [P2999]を添加し、30分間室温で静置する。
4. TMBを加え、30分間反応させる。
5. 1N塩酸を添加し反応を止め、450 nmで吸光度を測定する。

κ軽鎖を特異的に検出することが可能です。

プロテインA, プロテインG, プロテインLの結合親和性

	抗体サブクラス	プロテインA	プロテインG	プロテインL(※)
Human	IgG1	◎	◎	◎
	IgG2	◎	◎	◎
	IgG3	×	◎	◎
	IgG4	◎	◎	◎
	IgM	△	×	◎
	IgD	×	×	◎
	IgA	△	×	◎
Mouse	IgG1	△	○	◎
	IgG2a	◎	◎	◎
	IgG2b	◎	◎	◎
	IgG3	◎	◎	◎
	IgM	×	×	◎
Rat	IgG1	△	○	◎
	IgG2a	×	◎	◎
	IgG2b	×	○	◎
	IgG2c	◎	◎	◎
Goat	Total IgG	○	◎	×
Bovine	Total IgG	○	◎	×
Rabbit	Total IgG	◎	◎	△
Chicken	Total IgY	×	×	×

◎: Strong ○: Medium △: Low ×: None

※プロテインLはκ軽鎖のあるイムノグロブリンのみに反応

抗プロテインA抗体

Anti-Protein A Chicken Polyclonal Antibody 0.1mg/vial 25,000円 [A3044]

Anti-Protein A Chicken Polyclonal Antibody Biotin Conjugate 0.05mg/vial 25,000円 [A3045]

Anti-Protein A Chicken Polyclonal Antibody HRP Conjugate 0.05mg/vial 25,000円 [A3187]

A3044、A3045を用いたプロテインAの定量

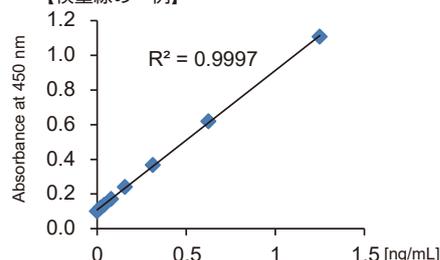
抗体精製過程においては、精製樹脂から溶出するプロテインAが問題となることがあります。弊社の抗プロテインA抗体を使用すれば、高感度で溶液中のプロテインAを定量することが可能です。

【サンドイッチELISAによるProteinA定量の一例】

操作手順

1. **A3044** (Anti-protein A antibody) を炭酸ナトリウムバッファー (pH8.5) で希釈し、ELISAプレートにコートする。
2. 1% BSA/TBSTを用いて2時間ブロッキングする。
3. TBS-Tで3回洗浄後、測定サンプルを各ウェルに添加し、30分間反応させる。
4. TBS-Tで3回洗浄後1μg/mLに調製した**A3045** (Anti-protein A antibody biotin conjugate) を各ウェルに添加し、30分間静置する。
5. TBS-Tで3回洗浄後、**S0972** (SA-HRP) を各ウェルに添加し、30分間静置する。
6. TBS-Tで3回洗浄後、TMBを加え30分間反応させる。
7. 1N 塩酸を添加し反応を止め、450 nm で吸光度を測定する。

【検量線の一例】



関連製品

ペルオキシダーゼ基質

TMB [for ELISA] (Ready-to-use solution)
 (= 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (Ready-to-use solution)) 100mL 8,800円 [T3854]

使用例

1. 各ウェルにTMB溶液[T3854]を100μLずつ添加する。
2. 30分間室温で振とうする。
3. 1N 塩酸を加えて反応を停止する。
4. 450 nmの吸光度を測定する。

本製品T3854はHRPと反応すると可溶性生成物を生じ、ELISA等に使用できます。沈殿性生成物を目的とするウェスタンブロットング等には使用できません。

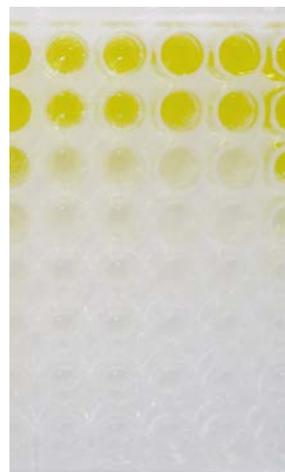


図. 上記の手順での使用例

TMB [for Western blotting] (Ready-to-use solution)
 (= 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (Ready-to-use solution)) 100mL 8,000円 [T3855]

AzBTS [for ELISA] (Ready-to-use solution) [for ELISA]
 (= 2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid Ammonium Salt) (Ready-to-use solution)) 100mL 11,000円 [A3176]

ストレプトアビジン

Streptavidin from <i>Streptomyces avidinii</i>	1mg/vial 12,000円 [S0951]
Streptavidin HRP Conjugate	0.1mg/vial 12,000円 [S0972]
Streptavidin FITC Conjugate	0.1mg/vial 12,000円 [S0966]
Streptavidin DTBTA-Eu³⁺ Conjugate	0.1mg/vial 40,000円 [S0993]
Streptavidin Maleimide Conjugate	0.5mg/vial 14,000円 [T3531]

東京化成工業株式会社

試薬製品について

■本社営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
 Tel: 03-3668-0489 Fax: 03-3668-0520 E-mail: Sales-JP@TCIchemicals.com

■大阪営業部 〒541-0041 大阪府大阪市中央区北浜1-1-21 第2中井ビル1階
 Tel: 06-6228-1155 Fax: 06-6228-1158 E-mail: osaka-s@TCIchemicals.com

スケールアップ、受託サービス(合成・開発・製造)について

□化成品営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
 Tel: 03-5651-5171 Fax: 03-5640-8021 E-mail: finechemicals@TCIchemicals.com

弊社製品取扱店

本誌掲載の化学品は試験・研究用のみ使用するものです。化学知識のある専門家以外の方のご使用はお避けください。品目や製品情報等、掲載内容の変更を予告なく行う場合があります。内容の一部または全部の無断転載・複製はご遠慮ください。