

# 細胞分画 / タンパク質抽出用試薬

## 細胞分画用キット

細胞から各細胞小器官(オルガネラ)を効率よく分離する手法は、タンパク質の局在や機能を調べる上で重要です。弊社では核、細胞質、ミトコンドリアの分画に最適な試薬キットをご用意しています。

## ミトコンドリア単離キット

### Mitochondrial Isolation Kit

1kit [M3527]

ミトコンドリア単離キット(製品コード: M3527)は、培養した哺乳類細胞や組織から簡単にミトコンドリアを単離するための試薬キットです。

単離したミトコンドリアはウェスタンブロットなどの解析に利用可能です。

### キット内容物

- Mitochondrial Isolation Reagent A 約30検体分
- Mitochondrial Isolation Reagent B 約30検体分
- Mitochondrial Isolation Reagent C 約30検体分



### Mitochondrial Isolation Kit [M3527] の利用例

1. 遠心分離により細胞を回収し、ペレットを傷つけないように上清を除去する。接着細胞はセルスクレイパーを用いて剥離する。
2. Mitochondrial Isolation Reagent Aに細胞を懸濁し、ボルテックスで混合する。1 x 10<sup>7</sup> cellsあたり Reagent Aを400 μL加える。
3. 氷上で2分間静置する。
4. 懸濁液に Mitochondrial Isolation Reagent Bを加え、5秒間ボルテックスで混合する。懸濁液400 μLあたり Reagent Bを5 μL加える。
5. 氷上で5分間静置する。1分おきにボルテックスで混合する。
6. Mitochondrial Isolation Reagent Cを加え、数回の転倒混合をする(ボルテックス厳禁)。手順2で使用した Reagent Aと同量の Reagent Cを使用する。
7. 700 x g, 4°Cで10分間遠心分離する。
8. 上清を新しいチューブに移し、12,000 x g, 4°Cで15分間遠心分離する。
9. 上清(サイトゾル画分)を回収し、ペレットに Reagent Cを300 μL加える。
10. 12,000 x g, 4°Cで5分間遠心分離し、上清を除去する。
11. ミトコンドリア(ペレット)を下流の実験に用いる。

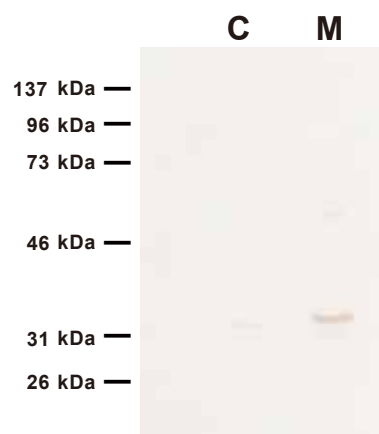


図1.  
M3527を用いて単離したサイトゾル画分(C)とミトコンドリア(M)のウェスタンブロット例。ミトコンドリアからはRIPA Bufferを用いてタンパク質を抽出し、VDAC1/2抗体を用いて検出。マウス由来細胞から高度に濃縮されたミトコンドリアを単離可能。

## 核 / 細胞質分画キット

### Nuclear / Cytoplasmic Fractionation Kit

1kit [N1208]

核 / 細胞質分画キット (製品コード: N1208) は、哺乳類細胞の細胞質タンパク質と核タンパク質を簡便に分離するための試薬キットです。附属の3種類の試薬を用いて各画分を迅速に回収することができます。抽出したタンパク質はそのままウェスタンブロットなどの解析に利用可能です。

#### キット内容物

- 1X Cytoplasmic Extraction Buffer 約50検体分
- 20X Detergent Solution 約50検体分
- 1X Nuclear Extraction Buffer 約50検体分



### Nuclear / Cytoplasmic Fractionation Kit [N1208] の利用例

#### <細胞質抽出>

1. 細胞を回収し、氷冷したPBSで2回洗浄する。  
接着細胞はセルスクレイパーを用いて剥離する。
2. 氷冷した1X Cytoplasmic Extraction Bufferに細胞を懸濁する。  
細胞容積 100  $\mu$ L (約  $1 \times 10^7$  cells) あたりバッファを 400  $\mu$ L 加える。
3. 氷上で10分間静置する。
4. 懸濁液に氷冷した20X Detergent Solutionを加え、10秒間ボルテックスで混合する。  
懸濁液 500  $\mu$ L あたり溶液を 25  $\mu$ L 使用する。
5. 800 x g, 4 °Cで10分間遠心分離し、上清(細胞質画分)を回収する。

#### <核抽出>

6. ペレットを氷冷した1X Nuclear Extraction Bufferに懸濁する。  
ペレット容積 100  $\mu$ L あたりバッファを 100  $\mu$ L 加える。
7. 氷上で20分間静置する。5分おきにボルテックスで混合する。
8. 15,000 x g, 4 °Cで10分間遠心分離し、上清(核画分)を回収する。
9. 抽出した各画分のタンパク質を下流の実験に用いる。

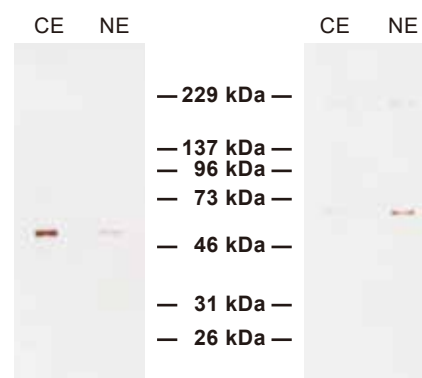


図2.

N1208を用いて抽出した細胞質画分(CE)と核画分(NE)のウェスタンブロット例。抗 $\alpha$ -Tubulin抗体(左)と抗Lamin B1抗体(右)を用いて検出。両者を分画して抽出可能。

## タンパク質抽出用調製済み溶液

タンパク質精製において最初のステップとなる「組織や細胞を破碎・溶解してタンパク質を抽出する」操作は、最終的に得られるタンパク質の性状や収量に影響するため重要です。弊社では培養細胞、神経組織、微生物からのタンパク質抽出に最適なバッファーをご用意しています。

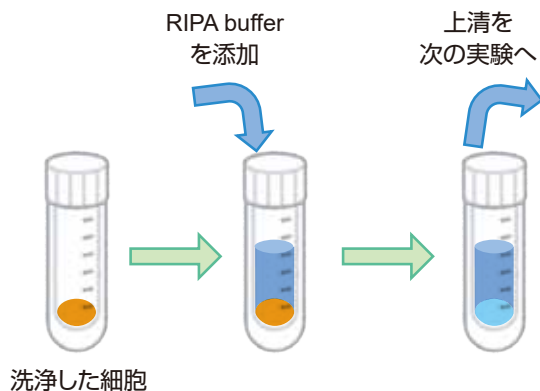
<b>Nervous Tissue Protein Extraction Buffer</b>	100mL [B6279]
<b>RIPA Buffer (Ready-to-use) [for Protein extraction]</b>	100mL [R0246]
<b>E.coli / Yeast Protein Extraction Buffer</b>	100mL [Y0021]

### 特長

- 各対象に最適化した界面活性剤ベースの調製済み溶液
- 細胞や組織を懸濁し、遠心分離するだけで簡単に目的タンパク質を抽出
- 抽出したタンパク質はそのままウェスタンブロットなどの解析に利用可能

### RIPA Buffer [R0246] の利用例

1. 培養した細胞を回収し、PBSにて2度洗浄する。
2.  $0.5 - 5.0 \times 10^7$  cellsあたりRIPA Buffer [R0246]を1 mL添加し、ピペティングで懸濁する。
3. 氷上で15分間静置する。
4.  $10,000 \times g$ ,  $4^\circ\text{C}$ で10分間遠心分離する。
5. 上清をそのまま下流の実験に用いる。



137 kDa —  
96 kDa —  
73 kDa —  
  
46 kDa —  
  
31 kDa —  
26 kDa —



図3.  
R0246を用いて抽出したタンパク質のウェスタンブロット例。  
哺乳類細胞から $\beta$ -Actin (42 kDa)を効率的に抽出可能。

## プロテアーゼ阻害剤カクテル

100×Protease Inhibitor Cocktail (EDTA free)

1 vial [P2949]

100×Protease Inhibitor Cocktail

1 vial [P2976]

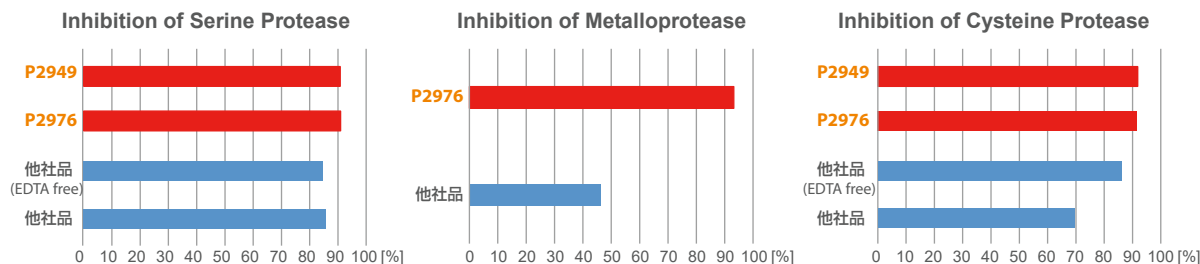
### 特長

- 1 mLの精製水に溶解するだけで100倍濃縮液として使用可能
- 目的タンパク質を幅広いプロテアーゼによる分解から保護
- P2949はEDTAを含まないため、金属キレートアフィニティー精製にも適合

### 構成成分

プロテアーゼ阻害剤	ターゲットプロテアーゼ	P2949	P2976
AEBSF	セリンプロテアーゼ	○	○
Aprotinin	セリンプロテアーゼ エステラーゼ	○	○
EDTA	金属プロテアーゼ		○
E-64	システインプロテアーゼ	○	○
Leupeptin	システインプロテアーゼ トリプシン様プロテアーゼ	○	○

### プロテアーゼ阻害活性試験結果



セリンプロテアーゼなどの様々なプロテアーゼに対し、P2949およびP2976は他社品と同等以上の阻害率を示します。

### 関連製品

30% Acrylamide / Bis-acrylamide (29:1)	250mL [A3217]
30% Acrylamide / Bis-acrylamide (37.5:1)	250mL [A3218]
Bradford Assay Solution (Ready-to-use) [for Protein determination]	500mL [B5702]
2X SDS-PAGE Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	25mL [B5834]
4X SDS-PAGE Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	20mL [B6104]
6X Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	10mL [B6105]
2X SDS-PAGE Sample Buffer Phenol Red (2-Mercaptoethanol free)	25mL [B6110]
Coomassie Brilliant Blue G-250 (Ready-to-use Solution) [for Electrophoresis]	500mL [C3488]
DAB staining kit	1kit [D5909]
Pyrogallol Red (Ready-to-use Solution) [for Protein determination]	100mL [P2575]
Standard Solution of Albumin from Bovine Serum	5mL [T3796]

## 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。