

ウェスタンブロット関連試薬

タンパク質の検出に

ウェスタンブロット (WB) は、重要なシグナル伝達経路やタンパク質の会合、様々な細胞株や組織におけるタンパク質発現、薬剤やその他の処理の影響をタンパク質レベルで調べるために役立つ、基本的な技術です。BioLegendでは、タンパク質の分子量マーカーや基質溶液から特異性の高い抗体まで、WBに役立つツールをご用意しています。明確で解釈しやすいWBの結果を得るために、これらの製品をお試しください。

WB用試薬と抗体の詳細はこちら：

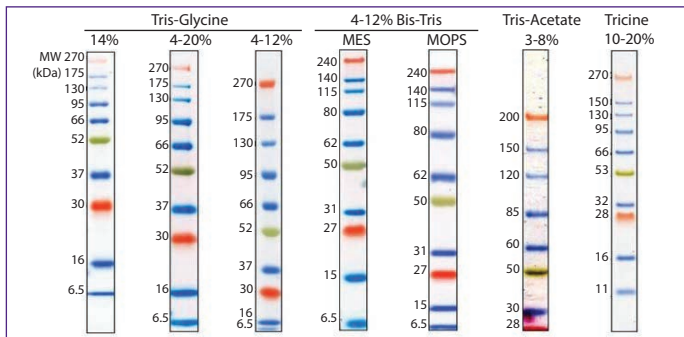
biolegend.com/ja-jp/western-blot

正確なタンパク質分子量マーカー

Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladderは、6.5 kDaから270 kDaまでの幅広い分子量をカバーする、10種類の着色済みリコンビナントタンパク質（色数は3色）が含まれている分子量マーカーです。SDS-PAGEにおけるタンパク質分離の確認や、WBにおけるメンブレンへの転写の確認、タンパク質サイズの推定に最適です。

Description	Size	Cat. No.
Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder	50 µL 500 µL	773301 773302

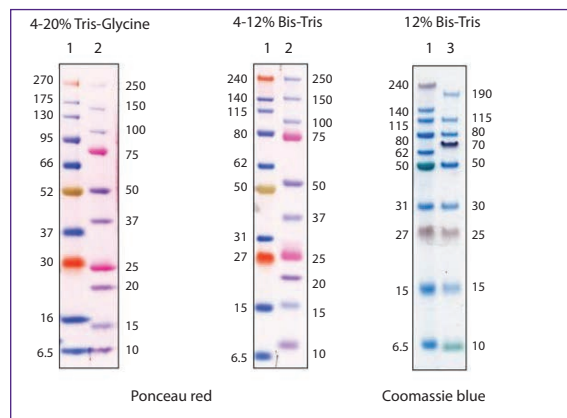
SDS-PAGE用の異なる種類のゲルとバッファーで明確に分離されたシャープなバンドが得られます



Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder 3 µLを異なる種類のゲルと泳動バッファーを用いて電気泳動し、ニトロセルロースメンブレンに転写しました。各タンパク質の分子量 (MW) (kDa)は、未染色のタンパク質スタンダードに対するキャリブレーションによって決定しました。

注：記載しているすべてのMWは概算値です。

他社のタンパク質分子量マーカーと同等の分子量検出が可能



Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder 3 µLを、図に示した異なる種類のゲルを用いて電気泳動しました。その後、タンパク質をCoomassie blueで染色、あるいはニトロセルロースメンブレンに転写後にPonceau redで染色しました。

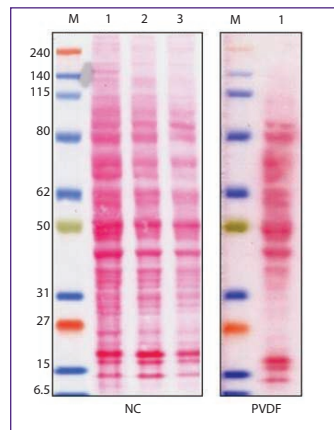
注：記載しているすべてのMWは概算値です。

Lane 1: Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder

Lane 2: 他社1のタンパク質分子量マーカー製品

Lane 3: 他社2のタンパク質分子量マーカー製品

WBにおける転写効率にも優れています



Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder 3 µLと全細胞溶解液（総タンパク質15 µg）を4-12% Bis-Trisゲル、MOPS泳動バッファーを用いて電気泳動しました。その後、ニトロセルロースメンブレン (NC) およびPVDFメンブレンに転写し、Ponceau redで染色しました。

注：記載しているすべてのMWは概算値です。

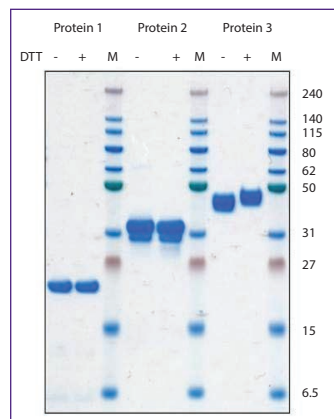
Lane M: Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder

Lane 1: HeLa細胞

Lane 2: Jurkat細胞

Lane 3: NIH3T3細胞

タンパク質精製における分子量推定にも適しています



Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder 3 µL (Lane M)と、分子量の異なる3種類のリコンビナントタンパク質1, 2および3（各2 µg）を12% Bis-Trisゲル、MES泳動バッファーを用いて電気泳動し、Coomassie blueで染色しました。

注：記載しているすべてのMWは概算値です。

Western-Ready™シリーズ製品

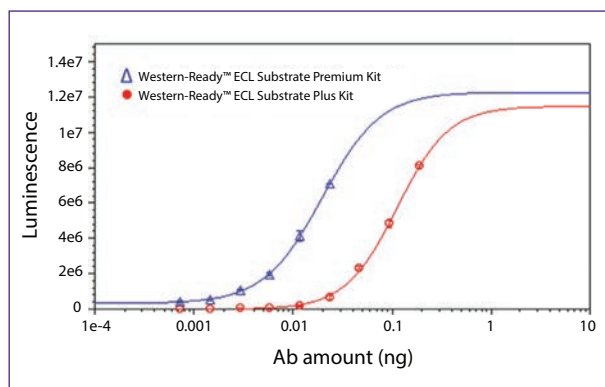
タンパク質の抽出やサンプルをゲルにロードする過程、電気泳動や検出など、WBのワークフローの各ステップに対応するWestern-Ready™シリーズの試薬をお試しください。

Western-Ready™シリーズ製品の特徴

- ・ 社内で品質管理試験を実施しています
- ・ 性能にご満足いただけることを保証します

Description	Use	Size	Cat. No.
Western-Ready™ ECL Substrate Plus Kit	The ECL Substrate Plus Kit is useful for detecting picogram amounts of antigen.	20 mL 200 mL 500 mL	426315 426316 426317
Western-Ready™ ECL Substrate Premium Kit	The ECL Substrate Premium Kit detects femtogram amounts of antigen.	20 mL 200 mL	426318 426319
Western-Ready™ TBS Tween-20 Buffer (20X)	Buffer for blocking, washing, and antibody dilution. Formulated to reduce non-specific binding.	1 L	426309
Western-Ready™ Rapid Protein Extraction Buffer	Stringent lysis buffer to extract proteins from all subcellular compartments.	100 mL	426305
Western-Ready™ MES SDS-PAGE Running Buffer (10X)	Running buffer for resolving small-to-medium-sized proteins on Bis-Tris SDS page gels.	1 L	426307
Western-Ready™ Protein Sample Loading Buffer (5X)	Used for the preparation of samples for non-reducing and reducing SDS-PAGE.	20 mL	426311

Western-Ready™ ECL Substrate Kits



Western-Ready™ ECL Substrate Plus KitおよびPremium Kitを用いたELISAの例を示しています。グラフに示した量のpurified anti-SSRP1 antibody (Cat. No., 609702) を、anti-mouse Fcを固相化したプレートを用いて室温で1時間反応させ、捕捉しました。結合した抗体をHRP goat anti-mouse IgG antibody (Cat. No. 405306)とWestern-Ready™ ECL Substrate Premium Kit (Cat. No. 426319) (グラフの青い三角) またはWestern-Ready™ ECL Substrate Plus Kit (グラフの赤丸) を用いて検出しました。グラフに示した値は、バックグラウンドを差し引いた後のtechnical replicate (3回測定) の平均値を表しています。

Western-Ready™ ECL Substrate Kits

高感度な基質

Western-Ready™ ECL Substrate Kitは、WBやELISAにおいて西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) 活性の検出に用いる非放射性でルミノールベースの増強化学発光基質 (ECL) です。このキットにより高感度な検出が可能となり、シグナルは最長4時間持続します。ECL Plus Kitは低～中ピコグラムレベルのターゲットタンパク質を検出するのに最適です。一方、Premium Kitは高フェムトグラムレベルのターゲットタンパク質の検出に適した、超高感度な試薬です。

主な特徴

- ・ ルミノールベースの検出系です
- ・ 高感度な検出を実現できます
- ・ 最小サイズは20 mLですので、お手軽にお試しいただけます
- ・ 様々な感度に対応した複数の製品をご用意しています

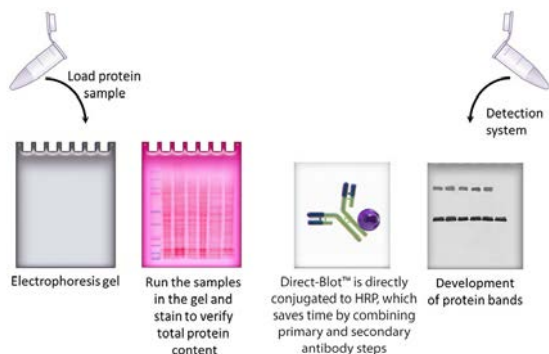


Western-Ready™ ECL Substrate Plus KitおよびPremium Kitを用いたWBの例です。HeLa細胞の全細胞抽出液 (使用した総タンパク質量は図に示す通り) を4-12% Bis-Trisゲルで電気泳動し、ニトロセルロースメンブレンに転写後、purified anti-Lamin A/C antibody (Cat. No. 600002) (0.1 µg/mL、5,000倍希釈) を4℃で一晩反応させました。その後、HRP goat anti-mouse IgG antibody (Cat. No. 405306) (3,000倍希釈) を反応させ、Western-Ready™ ECL Substrate Plus KitおよびWestern-Ready™ ECL Substrate Premium Kitを用いてタンパク質を検出しました。

HRP標識一次抗体 Direct-Blot™シリーズ製品

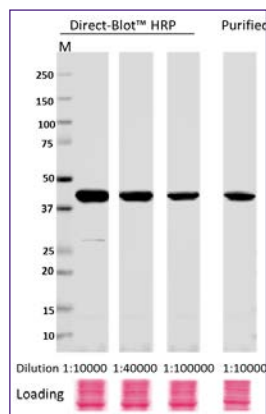
特異性を追求して作製した抗体です

WBを行う場合、目的のタンパク質を検出するために二次抗体を用いる間接法が利用されることが一般的です。しかしながら、シグナルの増幅が必要な場合を除き、間接法を用いるメリットはありません。そこで、HRPを標識した一次抗体製品、Direct-Blot™シリーズをご用意しました。これにより二次抗体を用いる必要が無く、より迅速に結果を得ることができます。これらのHRP標識一次抗体は高感度な検出が可能となるよう、慎重に開発および試験を実施しています。



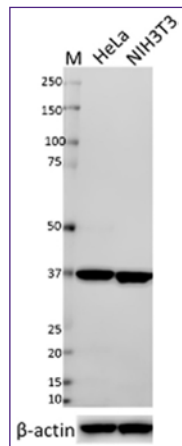
Direct-Blot™シリーズ製品の使用例

Direct-Blot™ HRP anti-β-actin Antibody



HeLa細胞の全細胞溶解液（総タンパク質 15 μg）を4-20% Tris-glycineゲルで電気泳動し、ニトロセルロースメンブレンに転写後、Direct-Blot™ HRP anti-β-actin antibody, clone W16197A（10,000倍、40,000倍または100,000倍希釈）あるいはpurified anti-β-actin antibody, clone W16197Aを反応させました。なお、purified anti-β-actin antibodyを用いたメンブレンには二次抗体としてHRP anti-rat IgG antibody（3,000倍希釈）を反応させました。その後、化学発光基質を用いてタンパク質を検出しました（上）。ローディングコントロールとしてPonceau S染色を実施しました（下）。Lane M：タンパク質分子量マーカー

Direct-Blot™ HRP anti-GAPDH Antibody



HeLa細胞およびNIH3T3細胞の全細胞溶解液（総タンパク質15 μg）を4-12% Bis-Trisゲルで電気泳動し、ニトロセルロースメンブレンに転写後、Direct-Blot™ HRP anti-GAPDH antibody, clone W17079A（4,000倍希釈）を反応させました（上）。ローディングコントロールとして、Direct-Blot™ HRP anti-β-actin antibody (Cat. No. 643807)（2,000倍希釈）を使用しました（下）。タンパク質は化学発光基質を用いて検出しました。Lane M：タンパク質分子量マーカー

ノックアウトまたは ノックダウン検証済み抗体

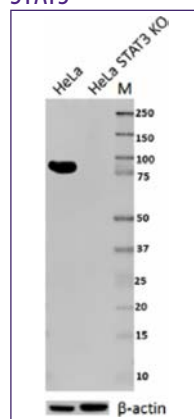
今日の科学界において、発表された研究の再現性が低いことが緊急かつ重要な問題とされています。研究助成機関や研究者、メーカー、出版社など、すべての関係者・関連団体が足並みを揃えて、研究の厳密性と再現性を確保することが重要です。当社の抗体はその特異性を保証しています。標的タンパク質をノックアウト（KO）した細胞を用いて抗体を試験することは最も信頼性の高い抗体検証方法の1つです。そのため、当社の細胞生物学関連抗体の多くは、KOあるいはノックダウン（KD）の系を用いて検証しています。

詳細はこちら

biolegend.com/ja-jp/kokd-validation

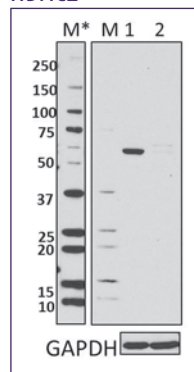
KO/KD細胞を用いた検証例

STAT3



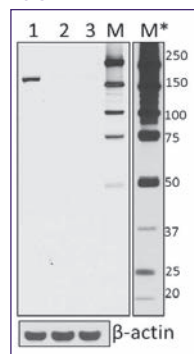
HeLa細胞およびSTAT3をCRISPR/Cas9でKOしたHeLa細胞の全細胞溶解液（総タンパク質 15 μg）を4-20% Tris-glycineゲルで電気泳動し、ニトロセルロースメンブレンに転写後、purified anti-STAT3 antibody, clone 4G4B45（500倍希釈、濃度1 μg/mL）を反応させました。その後、二次抗体としてHRP goat anti-mouse-IgG secondary antibody (Cat. No. 405306)を反応させ、化学発光基質を用いてタンパク質を検出しました（上）。ローディングコントロールとしてDirect-Blot™ HRP anti-β-actin antibody (Cat. No. 643807)を使用しました（下）。Lane M：タンパク質分子量マーカー

HDAC2



293T細胞（Lane 1）およびCRISPR/Cas9でHDAC2をKDした293T細胞（Lane 2）の全細胞溶解液を用いたWBで、purified anti-HDAC2 antibody (clone 13G8C67)を反応させました。ローディングコントロールとしてanti-GAPDH (poly6314) antibodyを使用しました。Lane M：タンパク質分子量マーカー M*は長時間露光した結果を示しています。

TSC2



HeLa細胞（Lane 1）およびTSC siRNA 5 nM（Lane 2）または20 nM（Lane 3）で処理したHeLa細胞の全細胞溶解液を用いたWBで、purified anti-TSC2 antibody (clone W16104A)を反応させました。ローディングコントロールとしてDirect-Blot™ HRP anti-β-actin antibodyを使用しました。Lane M：タンパク質分子量マーカー M*は長時間露光した結果を示しています。

Direct-Blot™シリーズ製品の詳細はこちら

biolegend.com/ja-jp/direct-blot

シグナル伝達経路の 複数の因子を研究しよう

抗体サンプラーキット (Antibody sampler kit) は、複数の抗体を試してみたい時に便利で経済的な製品です。細胞の機能や構造に関わるタンパク質を認識する複数の抗体、複数のエピトープタグ抗体、シグナル伝達経路関連タンパク質に対する複数の抗体などの組み合わせからなる製品をご用意しています。

PhosphoPair antibody setは2種類の抗体をセットにした製品でコスト削減と利便性を兼ね備えています。一方の抗体は目的のタンパク質のリン酸化フォームに特異的で、もう一方の抗体は非リン酸化フォームあるいは目的のタンパク質すべて（リン酸化と非リン酸化フォームの両方）を検出します。

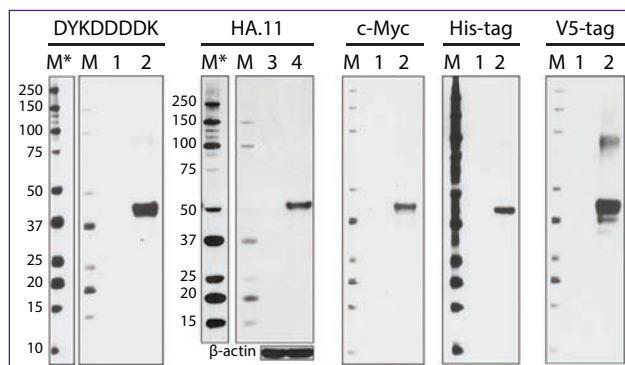
各実験において高品質な結果を確実に得られるよう、WBによって品質管理試験を実施しています。

Antibody sampler kitおよび PhosphoPair antibody setの利点

- 抗体はWB用に社内で品質管理試験を実施し、複数のアプリケーションで検証しています
- 各キットおよびセットには、複数回の実験を実施するのに十分な量の抗体が含まれています
- 性能にご満足いただけることを保証します

詳細はこちら

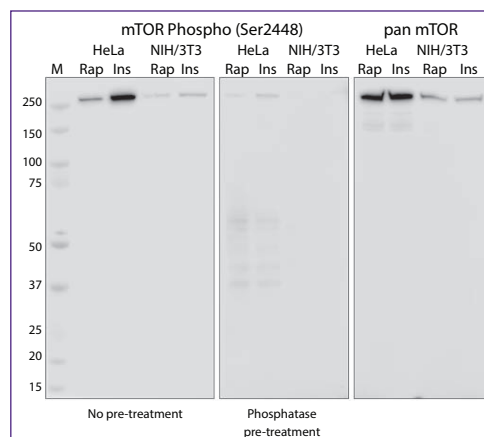
biolegend.com/ja-jp/sampler-kits



50 ng of recombinant human IFN- γ protein (Lane 1, ネガティブコントロール)、Posi-Tag Epitope Tag Protein (Lane 2, ポジティブコントロール)、CHO細胞の総タンパク質15 μ g (Lane 3) およびHAタグ融合タンパク質をトランスフェクションにより発現させたCHO細胞の総タンパク質15 μ g (Lane 4) を用いたWBで、anti-DYKDDDDK (clone L5)、anti-HA.11 (clone 16B12)、anti-C-Myc (clone 9E10)、anti-His (clone J099B12) および anti-V5 antibody (clone 7/4) を反応させました。ローディングコントロールとしてDirect-Blot™ HRP anti- β -actin Antibody (clone 2F1-1)を使用しました。

Lane M: タンパク質分子量マーカー

M*は長時間露光した結果を示しています。



血清飢餓条件下で培養したHeLa細胞およびNIH/3T3細胞を10 μ Mのrapamycin (Rap)で2時間、または150 nMのinsulin (Ins)で6分間処理し、それらの全細胞抽出液（総タンパク質15 μ g）を4-12% Bis-Trisゲルで電気泳動しました。ニトロセルロースメンブレンに転写後、purified anti-mTOR Phospho

(Ser2448)(clone A17024A)(Cat. No. 610301)(0.5 μ g/mL、1,000倍希釈)を室温で2時間反応させました。リン酸化特異性を確認するため、同様に作製したメンブレンをlambda protein phosphataseで前処理してから使用しました。HRP goat anti-mouse-IgG (Cat. No. 405306) (3,000倍希釈)と化学発光基質を用いてタンパク質を検出しました。等量のmTORタンパク質が泳動されていることはanti-pan mTOR antibody (Cat. No. 659202) (1.0 μ g/mL、500倍希釈)で検出して確認しました。Lane M: タンパク質分子量マーカー

Antibody Sampler Kits

Description	Clones	Specificities	Cat. No. (1 kit)
<i>E.coli</i> RNA Polymerase Antibody Sampler Kit	NT73, NT63, 4RA2, 8RB13	RNA Polymerase β prime, β , α	699907
Epitope Tag Small Motif Antibody Sampler Kit	L5, 9E10, 16B12, 7/4, J099B12	DYKDDDDK tag, Myc tag, HA tag, V5 tag, His tag	699903
Epitope Tag Big Motif Antibody Sampler Kit	P1A12, 1GFP63, 8C5.5, 4H12A59	GST tag, GFP tag, mCherry tag, Thioresdoxin tag	699902
IRF Antibody Sampler Kit	13H3A44, 13B2A38, 12A4A35, IRF4.3E4, 11F4A09, 14B2C16, 12G9A36, 7G11A45, 5A3A39	IRF 1 - 9	699906
α -Synuclein Antibody Sampler Kit	A15119B, P-syn/81A, A15115A, A15127A, A15126D	α -Synuclein Phospho (Tyr39), α -Synuclein Phospho (Ser129), α -Synuclein (80-96), α -Synuclein (C-Terminal Truncated x-122), α -Synuclein (117-122)	899903
Tau Antibody Sampler Kit	A15091A, M7004D06, A16103A, A16097F	Tau Phospho (Ser262), Tau Phospho (Thr181), Tau (1-223), Tau (368-441)	899902
Glial Cell Marker Antibody Sampler Kit	S16007D, 8E12.D9, SMI 24, SMI 91, P82H9	P2RY12, CX3CR1, GFAP, Myelin CNPase, Myelin Basic Protein	899904

PhosphoPair Sets

Description	Clones	Specificities	Cat. No.
PhosphoPair STAT1 Antibody Set	10C4B40, A15158B	STAT1 (Ser727)	699955
PhosphoPair STAT3 Antibody Set	4G4B45, 13A3-1	STAT3 (Tyr705)	699952
PhosphoPair PLK-1 Antibody Set	3F8, 2A3	PLK-1 (Thr210)	699956

Description	Clones	Specificities	Cat. No.
PhosphoPair ERK1/2 Antibody Set	6B8B69, W15133B	ERK1/2 (Thr202) ERK1/2 (Tyr204)	699951
PhosphoPair mTOR Antibody Set	6H9B10, A17024A	mTOR (Ser2448)	699953
PhosphoPair Lck Antibody Set	LCK-01, A18002D	Lck (Tyr394)	699954

輸入販売元



Digital Biology®

トミーデジタルバイオロジー株式会社

〒112-0002 東京都文京区小石川1-1-17 日本生命春日駅前ビル3階
email: info_ap@digital-biology.co.jp phone: 03-6240-0843

