

Magnosphere™ MS300/Carboxyl

Magnosphere™ MS300/Carboxyl はバイオセパレーション開発用の高機能磁性粒子です。その表面は独自開発の親水性ポリマーでコーティングされており、プローブ固定化用の官能基としてカルボキシ基が導入されています。この粒子表面は、タンパク質等の非特異的な吸着を抑えつつ、固定したプローブ分子の活性は高く維持するよう設計されています。この特徴から、**Magnosphere™ MS300/Carboxyl** は、酵素免疫測定、あるいは免疫沈降-ウエスタンブロット解析や DNA プローブの固定化などに用いる担体として優れた性能を発揮します。また、**Magnosphere™ MS300/Carboxyl** は均一な粒子径を有し、超常磁性を示しますので、磁気分離や再分散の操作が容易に行えます。

アミノ基を含む抗体等のプローブ分子を **Magnosphere™ MS300/Carboxyl** へ固定化する場合は、下記に示したアミノカップリング法による共有結合法を推奨します。

免疫沈降用の担体として使用した場合、粒子上に捕捉した Prey の溶出を少量 (~20 μL) の溶出液で行うと、濃縮が不要となり、次工程への移行が容易です。

LC-MS などの超高感度解析を行うための免疫沈降用担体としては、カルボキシ基の導入量が少ない **Magnosphere™ MS300/Low Carboxyl** もお勧めします。

<特徴>

- 均一粒子径
- 超常磁性
- 高速な磁気応答性
- 低非特異吸着

<用途例>

免疫測定、免疫沈降、ウエスタンブロット解析、核酸ハイブリダイゼーション

<製品仕様>

内容量	4 mL
固形分濃度	1 % スラリー(10 mg/mL、約 6 x 10 ⁸ beads/mL)
分散媒	0.01%有効成分 ProClin950/H ₂ O
粒子径	3 μm
磁性体含量	約 20%
表面カルボキシ基量	約 10 nmol/mg beads
使用期限	製品ラベルに表示

<保存方法>

冷蔵保存(2~8℃)。凍らせないでください。使用前によく分散してお使い下さい。

<推奨プロトコル>抗体固定化反応プロトコル

抗体の性質によって以下のプロトコル I または II をお選びください。

抗体固定化後の安定性は調製条件などによって変化します。

必要な試薬・器具

反応 Buffer:	0.1 M MES* buffer pH 5.0 (*MES: 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid)
洗浄 Buffer:	TBS-T (25 mM Tris-HCl, pH 7.2, 0.15 M NaCl, 0.05 % Tween 20)

カップリング試薬: EDC** (反応 Buffer で 10 mg/mL となるよう使用前に溶解する)
(**EDC: 1-Ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]carbodiimide Hydrochloride)

装置: 磁気スタンド、Vortex ミキサー、チューブローテーター

【プロトコル I】ポリクローナル抗体または変性しにくいモノクローナル抗体固定化用

1. **Magnosphere™ MS300/Carboxyl** を Vortex ミキサーで良く分散し、1 mL の粒子分散液をマイクロチューブに取る(粒子 10 mg 相当)。
2. マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除く。
3. 1 mL の反応 Buffer を加え、Vortex ミキサーで分散する。
4. 100 μg の抗体を加え、Vortex ミキサーで攪拌後、室温で 30 分間転倒混和する。
5. カップリング試薬を 100 μL 加え、室温で 3 時間転倒混和する。反応終了後、2と同様に上清を除去する。
6. 洗浄 Buffer を 1 mL 加え、Vortex ミキサーで粒子を分散する。
7. 2と同様に上清を除去する。
8. 6.~7.を合計 3 回繰り返す。
9. 1 mL の洗浄 Buffer で粒子を再分散し、使用まで 2~8℃で保存する。

【プロトコル II】変性しやすいモノクローナル抗体固定化用

1. **Magnosphere™ MS300/Carboxyl** を Vortex ミキサーで良く分散し、1 mL の粒子分散液をマイクロチューブに取る(粒子 10 mg 相当)。
2. マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除く。
3. 1 mL の反応 Buffer を加え、Vortex ミキサーで分散する。
4. カップリング試薬を 100 μL 加え、室温で 30 分間転倒混和する。
5. 100 μg の抗体を加え、Vortex ミキサーで攪拌後、室温で 3 時間転倒混和する。反応終了後、2と同様に上清を除去する。
6. 洗浄 Buffer を 1 mL 加え、Vortex ミキサーで粒子を分散する。
7. 2と同様に上清を除去する。
8. 6.~7.を合計 3 回繰り返す。
9. 1 mL の洗浄 Buffer で粒子を再分散し、使用まで 2~8℃で保存する。

<使用例>

【使用例 1】Jurkat cell lysate からの 20S プロテアソーム複合体の免疫沈降

Magnosphere™ MS300/Carboxyl に固定化プロトコル I に従って抗 20S プロテアソーム α6 モノクローナル抗体(Biomol International, L.P. 社, クローン:MCP20)を固定化した。

Jurkat cell lysate (100 μg protein) から 20S プロテアソームを免疫沈降した結果、**Magnosphere™ MS300/Carboxyl** では 20S プロテアソームの複合体(α1~α7, β1~β7)が高純度に回収された。一方、他社製磁性粒子を担体に用いた場合には非特異的なタンパク質のバンドが多く認められ、目的物の検出は困難であった。

<操作条件>

抗体を結合した **Magnosphere™ MS300/Carboxyl** : 0.5mg

サンプル: Jurkat cell lysate 30 μL (100 μg protein)

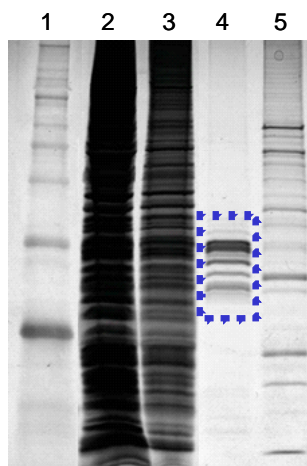
免疫沈降反応時間: 60 分 (4℃)

洗浄: 洗浄液 20mM HEPES(PH7.9) + 10v/v% glycerol + 0.5M KCl

+ 0.1% NP-40 + 0.1mM EDTA を 0.5mL 用いて 3 回(各 5 秒)さらに TBS-T で 1 回

溶出: 0.5% SDS, 20mL を加えて室温で 10 分振盪

検出: SDS-PAGE, 銀染色



レーン 1 分子量マーカー
 レーン 2 Jurkat cell lysate 40 μg protein/lane
 レーン 3 " 4 μg protein/lane
 レーン 4 **Magnosphere™ MS300/Carboxyl** を担体に用いた免疫沈降産物
 レーン 5 他社製磁性粒子を担体に用いた免疫沈降産物

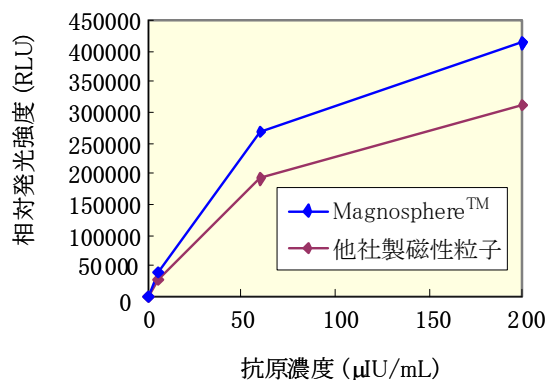
<お問い合わせ窓口>

JSR 株式会社 ライフサイエンス事業部 診断・研究試薬部
 E-mail: dx@jls.jsr.co.jp
 URL: <http://www.jsrlifesciences.com/>

【使用例 2】サンドイッチ ELISA 法による血清中甲状腺刺激ホルモン(TSH)の定量

Magnosphere™ MS300/Carboxylに抗体固定化反応プロトコル II に従って、一次抗体となる抗 TSH モノクローナル抗体(HyTest, Ltd.社、クローン:10C7)を固定化した。この粒子 50 μg と、ヒト血清に各濃度で TSH 抗原をスパイクした検体(50 μL) とを 37°C で 30 分間反応した後、アルカリフォスファターゼ(ALP)標識した二次抗体((HyTest, Ltd.社、クローン:5E8)と反応し、基質液(AMPPD)を加えて化学発光量を測定した。

Magnosphere™ MS300/Carboxylを用いた場合、抗原濃度 0 mIU/mL におけるノイズは、他社製磁性粒子(2.8mm)を用いた場合の約 1/2 であった。一方、抗原濃度 200mIU/mL におけるシグナルは 1.3 倍の強度が得られ、S/N 比として約 2.5 倍の高感度が得られた。



抗原濃度 (μIU/mL)	Magnosphere™	他社製磁性粒子
0	80	150
5	40060	27431
60	268542	191409
200	412546	312716

<注意>

- 本製品は研究用試薬ですので、研究用以外の目的にはご使用にならないください。
- 製品の仕様等は予告なく変更されることがあります。
- 製品の使用に当たっては、用途に対する法規制、および用途への適合性、安全性等を試験・確認ください。