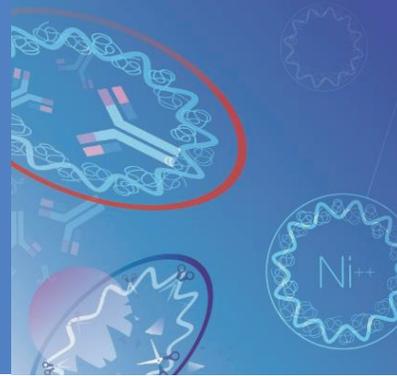


Capturem™ Series

——新型膜技术解锁蛋白质室温下快速操作的秘密！



His标签蛋白质纯化

抗体纯化

蛋白质免疫（共）沉淀

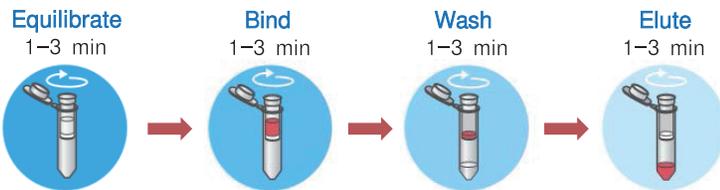
生物素化靶标的富集和纯化

Trypsin/Pepsin酶解消化

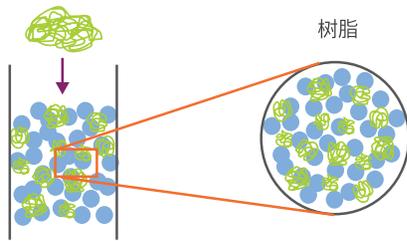
细胞外囊泡提取

- ◆ 操作简便、用时短
- ◆ 室温下操作，无需孵育
- ◆ 柱床体积小，可进行高浓度溶出
- ◆ 产品线丰富，有Miniprep、Maxiprep、24-well、96-well、Large Volume多种包装形式可供选择

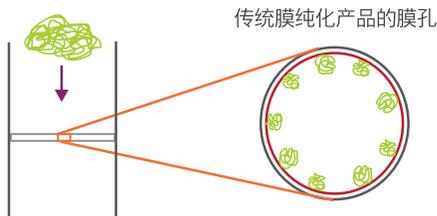
基础的实验操作流程：最快5 min即可完成！



Capturem™ 膜技术，小薄膜里的巧设计



- 结合力高（表面积大）
- 样品大分子在孔内缓慢扩散
- 分离纯化时间长



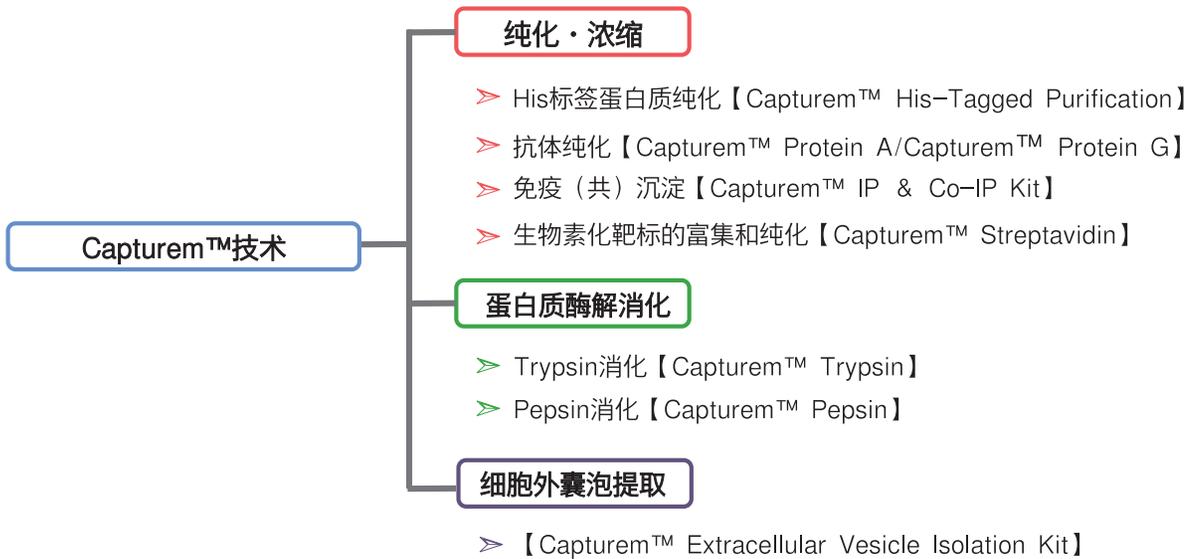
- 结合力低（内表面积小）
- 样品快速流过薄膜膜孔
- 分离纯化时间短，低压下滴落



- 结合力高（改造的膜孔内表面积增大，结合能力相当于或高于75 mg/cm³树脂）
- 样品快速流过薄膜膜孔
- 分离纯化时间短，低压下滴落

* 根据应用不同，Capturem™膜上所固定的配基不尽相同。His-tag蛋白质纯化应用Ni²⁺；抗体纯化应用protein A或protein G；IP&Co-IP应用protein A；生物素标记物纯化应用streptavidin；蛋白质样品消化应用trypsin或pepsin；细胞外囊泡提取应用凝集素。

Capturem™ 系列产品丰富的产品线



Capturem™ 蛋白质相关产品实验操作流程例



Capturem™ 常见 Q & A

Q1 Capturem纯化柱和纯化板可以重复使用吗？

A1 Capturem产品是一次性的，不推荐重复使用。

Q2 为了尽可能多的回收结合在膜上的蛋白质或抗体，需要几次洗脱？

A2 洗脱的次数取决于蛋白质的种类。His标签和基于Protein A的纯化通常需要1-2次洗脱，基于Protein G和链霉亲和素的纯化（例如：Ab-Ab capture）需要2-3次洗脱。

Q3 Capturem纯化柱和纯化板的保存条件是什么？

A3 Capturem产品可以在室温下保存。

Q4 在使用Capturem纯化柱和纯化板之前，需要对样品进行预清洁处理吗？

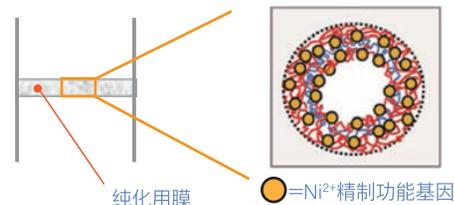
A4 推荐使用离心操作来对样品进行预清洁处理。如果发生了堵塞，建议使用小于1.2 μm的过滤器（例如：0.8 μm的过滤装置）进行过滤。

Q5 Capturem膜可以耐受的pH值范围是多少？

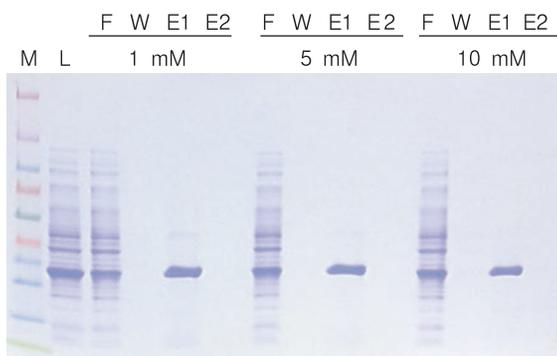
A5 Capturem膜是一种高度稳定的尼龙膜，可在pH1- pH13的范围内保持其稳定性。基于不同的化学性质，每一种Capturem产品都有其推荐的pH值范围，可以通过产品说明书进行查询。例如，Protein A系列推荐pH8，Protein G系列推荐pH5。

His标签蛋白质纯化 Capturem™ His-Tagged Purification

- 可应用于哺乳动物细胞和细菌样品。
- 通用性强，除了部分产品中提供的xTractor Buffer以外，还兼容其他的裂解buffer。
- 兼容多种添加剂（如β-ME、EDTA、DTT、甘油、TCEP等），可在变性或非变性条件下进行纯化。



可在添加剂（EDTA）存在下实现高纯度纯化

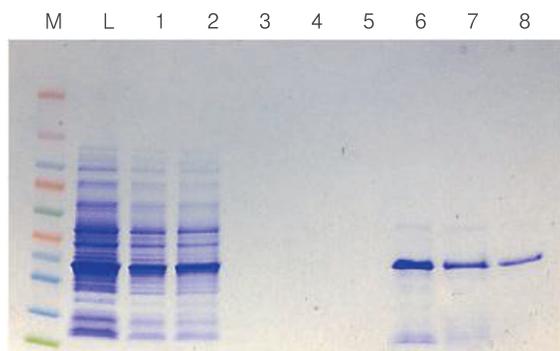


M : Marker L : Lysate F : Flowthrough
W : Wash E1 : Eluate 1 E2 : Eluate 2

Sample	Amount of Eluate 1
1 mM EDTA	139 μg
5 mM EDTA	112 μg
10 mM EDTA	98 μg

1 mM、5 mM及10 mM的EDTA存在下，对含有6×His标签的融合蛋白质GFPuv进行精制。样品、平衡buffer、清洗buffer和洗脱buffer中分别加入EDTA进行精制操作，并用300 μl的洗脱buffer洗脱2次。

可在变性剂（尿素、盐酸胍）存在下实现高纯度纯化



在变性和非变性（control）条件下添加适当的buffer，每个纯化柱上样均为800 μl表达6×his-GFPuv的细胞裂解上清液，样品中按需要添加8 M尿素或6 M盐酸胍。

M : Marker L : Lysate
1: Flowthrough (control) 2: Flowthrough (urea)
3: Wash (control) 4: Wash (urea) 5: Wash (guanidine)
6: Eluate (control) 7: Eluate (urea) 8: Eluate (guanidine)

兼容试剂一览表

Reagent	Compatibility*
MOPS	200 mM
HEPES	200 mM
Tris	200 mM
EDTA	10 mM
β-mercaptoethanol	30 mM
DTT	10 mM
TCEP	5 mM
Guanidine-HCl	6 M
Urea	8 M

Reagent	Compatibility*
Nonionic detergent (Triton X-100)	2%
Nonionic detergent (Tween 20)	2%
Anionic detergent (SDS)	1%
Arginine	500 mM
Glycine	100 mM
Histidine	20 mM
Sodium chloride	2 M
Imidazole	40 mM
Glycerol	10%

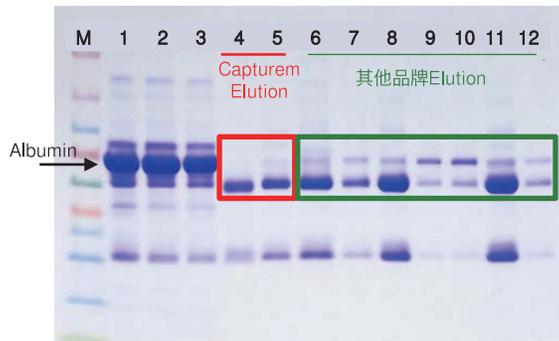
* 表中数据为本产品经测试能够兼容的试剂的最高浓度。

● 抗体纯化 Capturem™ Protein A/Capturem™ Protein G

- 可从广泛来源的样品中纯化多种类型的抗体，如动物血清、腹水、细胞培养基等。
- 特别适用于单克隆抗体和多克隆抗体的小量快速纯化和大规模筛选。



■ Capturem™膜技术 VS 树脂



Capturem™ Protein A (红色框) 相比于其他公司Protein A resin (绿色框), 可获得更高纯度的抗体。纯化人血清来源的抗体, 使用Capturem Protein A与其他公司的Protein A resin进行比较, 血清中的白蛋白被有效去除了。

- | | | |
|-----------------------------|---------|--------------------|
| 1. Human Serum | 6. A品牌 | Elution 1 |
| 2. B品牌洗涤液 | 7. A品牌 | Elution 2 |
| 3. C品牌洗涤液 | 8. B品牌 | Elution 1 |
| 4. Capturem Elution (马血清样品) | 9. B品牌 | Elution 2 |
| 5. Capturem Elution | 10. B品牌 | Elution 2 (repeat) |
| | 11. C品牌 | Elution 1 |
| | 12. C品牌 | Elution 2 |

(以上比较结果来源于Takara Bio USA, Inc.)

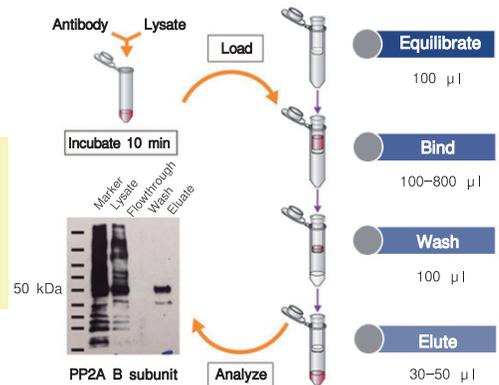
■ Protein A和Protein G对于不同来源和亚型抗体的亲和性

Species	Antibody subtype	Protein A	Protein G	Protein A/G	Species	Antibody subtype	Protein A	Protein G	Protein A/G
Human	Total IgG	+++	+++	+++	Mouse	Total IgG	+++	+++	+++
	IgG1	+++	+++	+++		IgM	-	-	-
	IgG2	+++	+++	+++		IgG1	+	++	++
	IgG3	+	+++	+++		IgG2a	+++	+++	+++
	IgG4	+++	+++	+++		gG2b	+++	+++	+++
	IgM	+	-	+		IgG3	+++	+++	+++
	IgD	-	-	-	Rat	Total IgG	+	++	++
	IgA1	+	-	+		IgG1	+	++	++
	IgA2	+	-	+		gG2a	-	+++	+++
	Fab	+	+	+		IgG2b	-	+	+
scFv	+	-	+	IgG2c	+++	+++	+++		
				Rabbit	Total IgG	+++	+++	+++	

+++ strong binding ++ medium binding + weak binding - no binding

● 免疫(共)沉淀 Capturem™ IP & Co-IP Kit

- 高性能“抗体-蛋白质”复合物纯化试剂盒, 包含用于IP和Co-IP实验的Protein A纯化柱和优化过的buffer。
- 抗体与样品孵育10 min之后, 仅需5 min即可在室温下完成快速纯化流程。
- 样品在膜上停留时间短, 避免复合物的凝集、解体或失活。



■ 实验例

已知野生型p53能够与一些病毒致癌基因例如SV40 T抗原 (SV40 T) 形成特异性复合物, 本实验例使用293T细胞同时表达p53和SV40 T, 将1 µg Anti-SV40 T抗体加入到100 µg细胞裂解液中, 室温下孵育20 min, 并不断颠倒混合。阴性对照组的裂解液则在不加抗体的情况下进行孵育。每组进行一次重复性操作。

结果显示, 对SV40 T进行的免疫沉淀实验在洗脱产物中同时检测到了SV40 T (97 kDa)和p53 (53 kDa) 的条带, 证实了二者之间较强的相互作用(如图, E-SV40 T-1和E-SV40 T-2)。由此证明了Capturem Protein A纯化柱能在基础水平免疫共沉淀p53和SV40 T。

OS: Original Sample
 FT: Flowthrough
 E: Eluate
 NC: Negative Control (no Ab incubation)

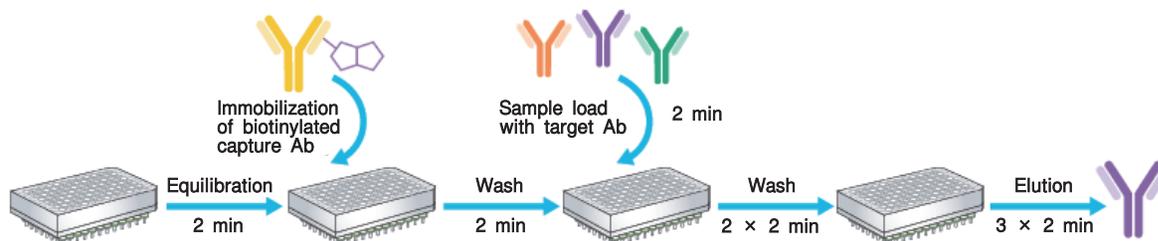
● 生物素化靶标的富集和纯化 Capturem™ Streptavidin

- 孔与孔之间具有高度重复性，保证了分析结果的一致性。
- 新型膜技术搭配一次性离心柱有效降低了污染和残留的风险。
- 样品停留时间短，从而有效地防止了样品聚集、失活，或者样品中复合物解离。

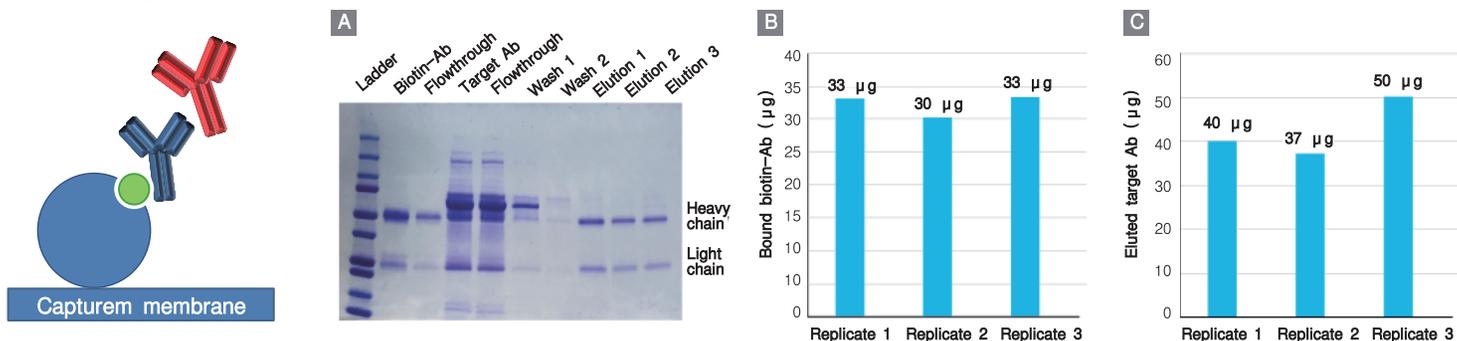
■ Capturem™ Streptavidin对不一样品的载量和操作时间

Capturem™ Streptavidin mini纯化柱和96-well 纯化板	生物素标记的抗体	生物素标记的BSA	生物素标记的ssDNA	游离的生物素	纯化时间
	20–40 μg	>15 μg	1,000–1,500 ng	>4,000 pmol	15 min

Capturem™ Streptavidin 96-well 纯化板操作流程

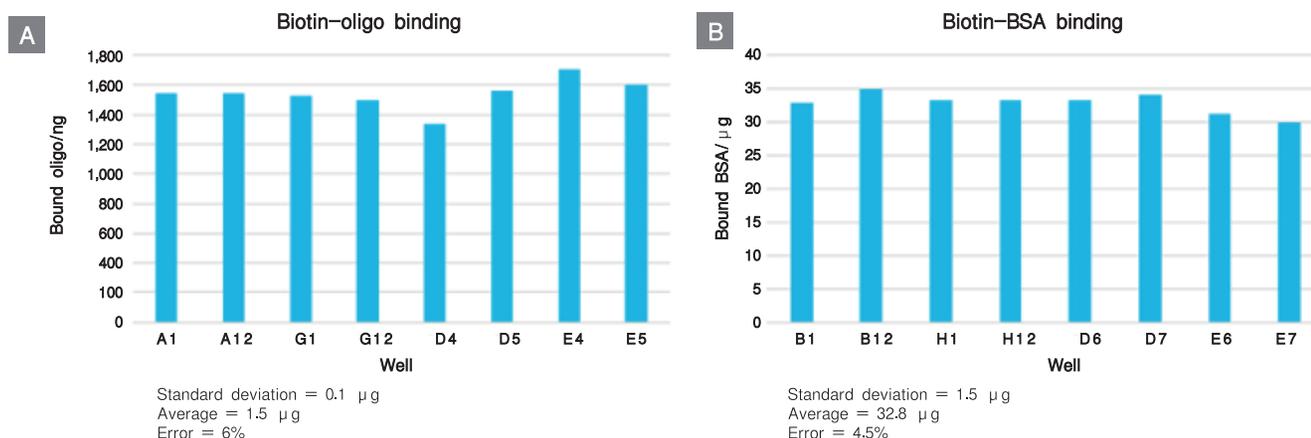


■ 使用Capturem™ Streptavidin连续三次捕获高纯度抗体



图A–C. 首先将200 μl含48 μg生物素化兔IgG的Binding Buffer上样至平衡好的Capturem Streptavidin spin column中，这时 32.0 ± 1.4 μg (图B) 的抗体 (Y) 被成功固定在膜上。然后洗涤一次，再将掺有靶抗体 (约100 μg山羊抗兔抗体 Y) 并用Binding Buffer稀释的含20%小鼠血清的杂交瘤培养基加入到Capturem Streptavidin spin column中，分别使用Binding Buffer和PBS连续洗涤两次，最后使用1.0 M甘氨酸洗脱3次，从生物素化的捕捉抗体上洗脱获得高纯度的靶抗体，收量约为 42 ± 5 μg (图C)。

■ Capturem™ Streptavidin 96-well纯化板具有高度重复性



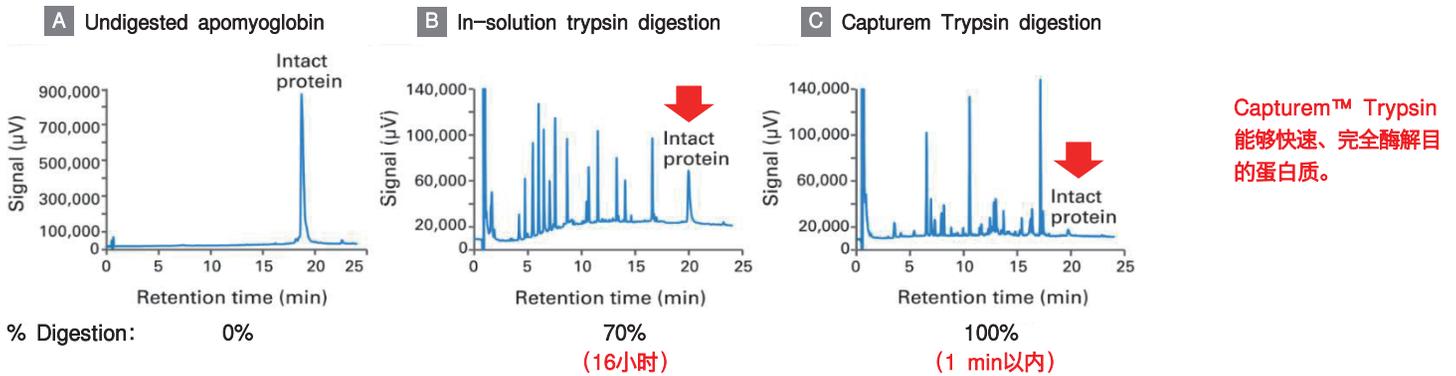
分别对生物素化oligo (图A) 和生物素化BSA (图B) 进行8次技术重复上样，并使用离心的方法进行靶标捕获。通过测定样品上样前后的OD值来对结合的分子进行定量。捕获操作按照标准的流程进行，15 min之内完成。

● 蛋白质酶解消化

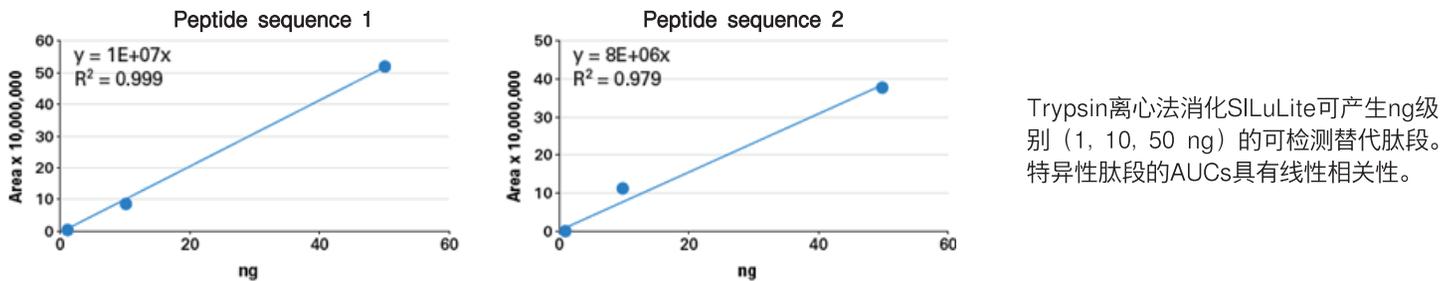
Capturem™ Trypsin (Mass Spectrometry Grade) / Capturem™ Pepsin

- 高效酶解消化蛋白质用于质谱鉴定，使蛋白质组学分析流程更加连贯。
- 操作快速，几分钟内即可酶解蛋白质样品，无需过夜处理。
- 比溶液法效率更高，酶解更彻底，且不易出现过度酶解。
- 样品中自溶片段更少，蛋白质非特异性修饰几率更低。

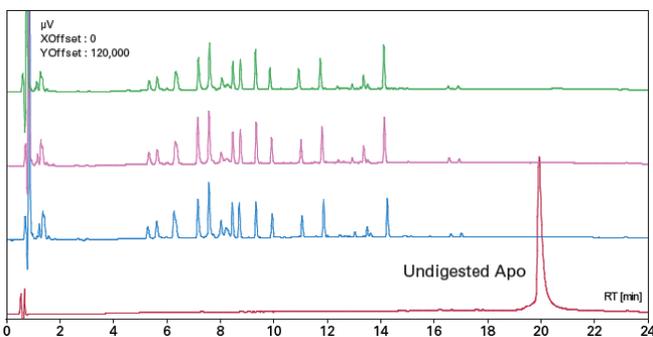
■ Capturem™ Trypsin (On Column) 与溶液法酶解 (In-solution) 对比数据



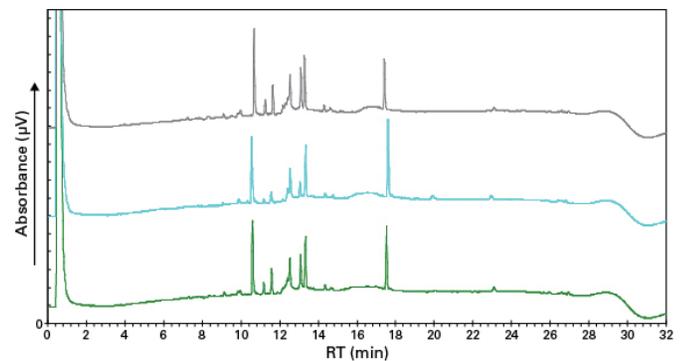
■ Capturem™ Trypsin 酶解SILuLite进行特定肽段定量分析



■ Capturem™ Trypsin/Pepsin 酶解产物具有高度重复性



在天然条件下，选择Capturem™ Trypsin 96-Well Plate的3个不同孔对80 μg的肌红蛋白 (Apo) 进行消化。HPLC结果显示，Capturem™ Trypsin酶解消化的产物具有很高的重复性。

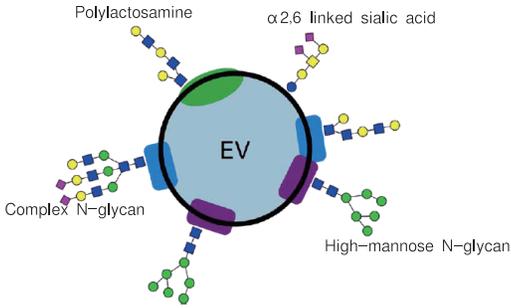


使用5%的甲酸稀释50 μg的Apo，选择3个不同批次的Capturem™ Pepsin对其进行消化，HPLC结果显示，三组消化产物具有相同的片段，说明Capturem™ Pepsin具有良好的重复性。

● 细胞外囊泡提取 Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit

- 简单快速: 30 min内即可从最高850 μl (Mini) 或24 ml (Maxi) 生物体液样品中完成细胞外囊泡 (EV) 的提取, 无需孵育或超速离心操作。
- 纯度高: 提取的EV经Western Blot检测表达exosome蛋白质, 而不表达nonexosomal污染蛋白质, 如calnexin 和 albumin。
- 收量高: EV最高收量可达 10^{10} (Mini) 或 10^{11} (Maxi), 可获得足够的exosomal RNA应用于下游的RT-qPCR、NGS等研究。
- 完整性好: 基于凝集素的提取原理, EV不易被破坏, TEM下观察呈经典形态。

■ 细胞外囊泡的糖基化

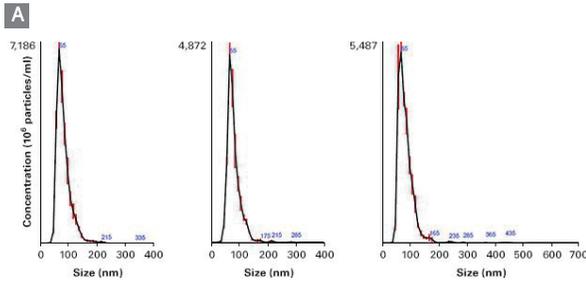


- EV的表面富含碳水化合物和糖基化蛋白质
- 基于凝集素的试验已被证明能够用于捕获EV来进行糖工学分析
- Capturem EV提取试剂盒使用固定化的基于凝集素的化合物来分离EV

Image adapted from Figure 1, Williams, C., *et al.*, Glycosylation of extracellular vesicles: current knowledge, tools and clinical perspectives. *J Extracell Vesicles* 7, 1442985 (2018).

■ Capturem膜技术 VS 超速离心法

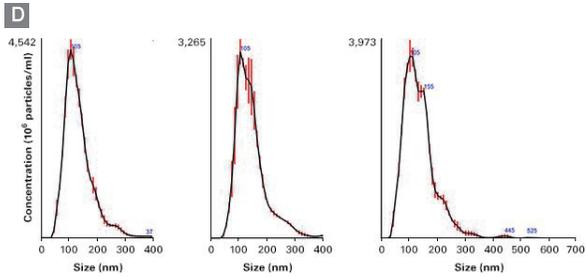
Capturem



Size (nm)	Mean	Mode	D90
R1	82.9	70.7	114.0
R2	81.4	71.2	108.7
R3	78.2	67.8	108.4
Avg.	80.8	69.9	110.4

分别使用Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit 和超速离心法从500 μl 血浆样品中分离EV, 进行三次重复性实验, 使用Nanoparticle tracking analysis (NTA) 检测。每种方法的粒径分布计算以平均值 (黑线) 和标准误差 (红线) 显示。

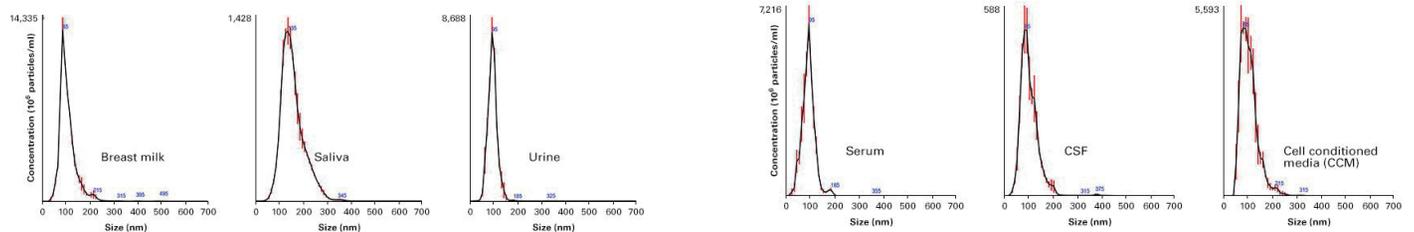
Ultracentrifuge



Size (nm)	Mean	Mode	D90
R1	129.2	103.8	190.5
R2	134.4	107.2	205.9
R3	140.8	107.7	212.8
Avg.	134.8	106.2	203.1

结果显示, 使用Capturem方法提取的EV平均粒径大小为81 nm (D90=110 nm), 超速离心法提取的EV平均粒径大小为135 nm (D90=203 nm)。由此可见, 使用Capturem方法提取的EV具有更窄的粒径分布范围, 且稳定性更好。

■ 不同体液样本中细胞外囊泡的提取



上图NTA结果显示, Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit 可以应用于多种生物体液样品的EV提取, 如母乳、唾液、尿液、血清、脑脊液、细胞条件培养基。每种方法的粒径分布计算以平均值 (黑线) 和标准误差 (红线) 显示。

● 产品列表

制品名称	货号	规格	最大上样量	收量
His标签蛋白质纯化				
Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit	635710	20 Purifications	850 µl	80 µg
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Kit	635713	6 Purifications	23 ml	1.5 mg
Capturem™ His-Tagged Purification 96-Well Plate	635714	1 × 96 well plate	1 ml	80 µg
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Columns	635715	25 Columns	23 ml	1.5 mg
	635719	50 Columns		
Capturem™ His-Tagged Purification 24-Well Plate	635730	1 × 24 well plate	4 ml	800 µg
Capturem™ His-Tagged Purification Large Volume	635724	4 Units (2 Units per box)	500 ml	10–25 mg
抗体纯化/免疫 (共) 沉淀				
Capturem™ Protein A Miniprep Columns	635717	12 Columns	850 µl	40 µg
Capturem™ Protein A Maxiprep Columns	635720	6 Columns	23 ml	1 mg
Capturem™ Protein A 96-Well Plate	635716	1 × 96 well plate	1 ml	40 µg
Capturem™ Protein A 24-Well Plate	635731	1 × 24 well plate	4 ml	400 µg
Capturem™ Protein A 24-Well Plate - HC	635743	1 × 24 well plate	4 ml	400 µg
	635742	4 × 24 well plate		
Capturem™ Protein A Buffer	635746	100 ml	–	–
Capturem™ Protein G Miniprep Columns	635725	10 Columns	850 µl	60 µg
Capturem™ Protein G 96-Well Plate	635726	1 × 96 well plate	1 ml	60 µg
Capturem™ Protein G Maxiprep Columns	635727	6 Columns	23 ml	1.2 mg
Capturem™ Protein G 24-Well Plate	635732	1 × 24 well plate	4 ml	600 µg
Capturem™ Protein G 24-Well Plate - HC	635745	1 × 24 well plate	4 ml	600 µg
	635744	4 × 24 well plate		
Capturem™ IP & Co-IP Kit	635721	12 Purifications	850 µl	–
生物素化靶标的富集和纯化				
Capturem™ Streptavidin Miniprep Columns	635733	20 Columns	850 µl	25 µg IgG ^{*1}
Capturem™ Streptavidin 96-Well Plate	635734	1 × 96 well plate	1 ml	25 µg IgG ^{*1}
蛋白质酶解消化				
Capturem™ Trypsin 96-Well Plate (Mass Spectrometry Grade)	635737	1 × 96 well plate	1 ml	25 µg IgG ^{*2}
	635736	4 × 96 well plate	1 ml	
Capturem™ Trypsin Miniprep Kit (Mass Spectrometry Grade)	635740	20 Rxns	850 µl	25 µg IgG ^{*2}
Capturem™ Trypsin Activation Buffer	635739	50 ml	–	–
Capturem™ Pepsin Miniprep Kit	635728	20 Rxns	850 µl	25 µg IgG ^{*2}
细胞外囊泡提取				
Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit (Mini)	635741	20 Minipreps	850 µl	10 ¹⁰ EVs
Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit (Maxi)	635748	8 Maxipreps	24 ml	10 ¹¹ EVs

*1: 4,000 pmol free biotin

*2: 80 µg protein

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售、转让、以转售、转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认：<https://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页仅限于中国大陆地区客户使用，其他地区客户请咨询当地代理商。
- 本宣传页上记载的产品信息是2020年7月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2020年7月印刷 2K



宝日生物技术有限公司

技术咨询电话: 4006518761 4006518769
E-mail: service@takarabiomed.com.cn