

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

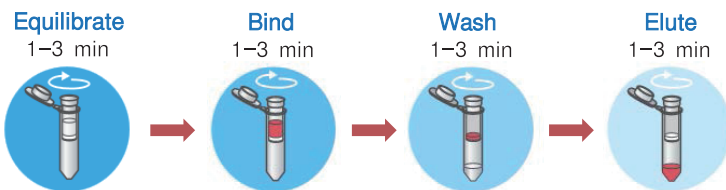
Trypsin/Pepsin酶解消化

细胞外囊泡提取

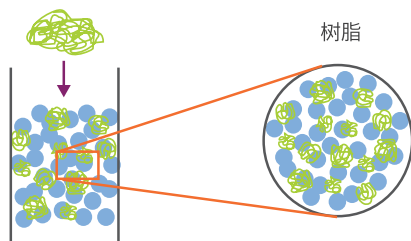


- ◆ 操作简便、用时短
- ◆ 室温下操作，无需孵育
- ◆ 柱床体积小，可进行高浓度溶出
- ◆ 产品线丰富，有Miniprep、Maxiprep、24-well、96-well、Large Volume多种包装形式可供选择

基础的实验操作流程：最快5 min即可完成！

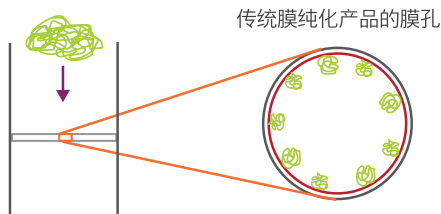


Capturem™ 膜技术，小薄膜里的巧设计



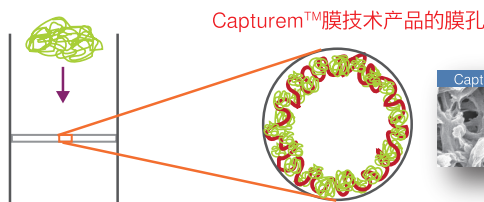
树脂

- 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

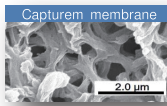


传统膜纯化产品的膜孔

- 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



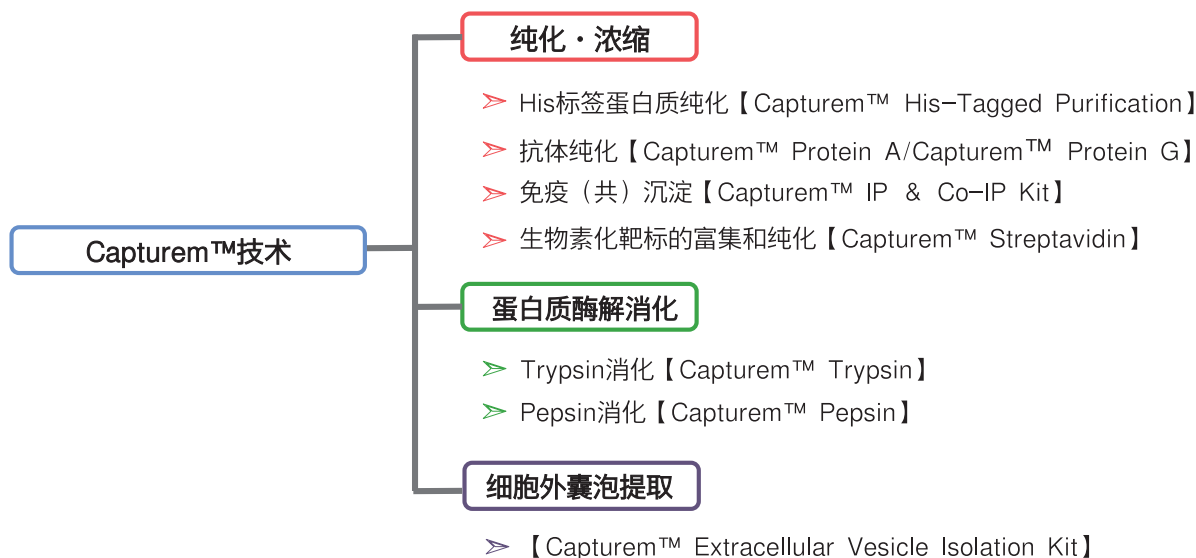
Capturem™膜技术产品的膜孔



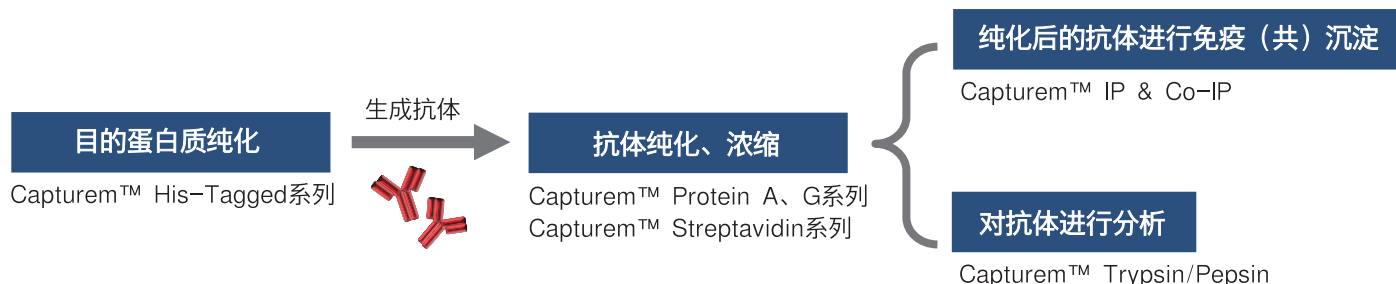
- 结合力高（改造的膜孔内表面积增大，结合能力相当于或高于75 mg/cm³树脂）
- 样品快速流过薄膜膜孔
- 分离纯化时间短，低压下滴落

* 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？

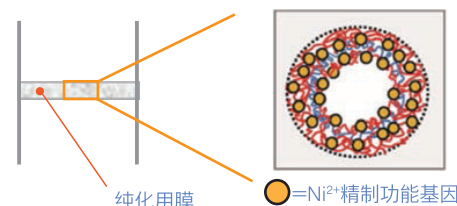
A4 推荐使用离心操作来对样品进行预清洁处理。如果发生了堵塞，建议使用小于1.2 μm的过滤器（例如：0.8 μm的过滤装置）进行过滤。

Q5 Capturem膜可以耐受的pH值范围是多少？

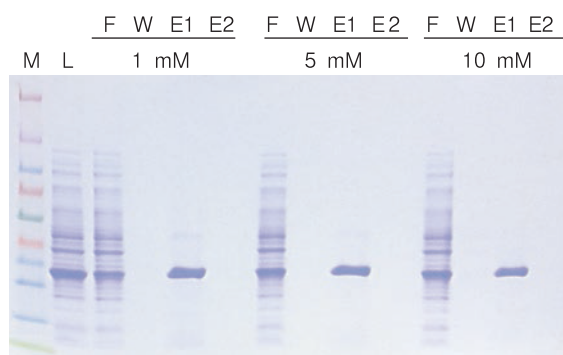
A5 Capturem膜是一种高度稳定的尼龙膜，可在pH1- pH13的范围内保持其稳定性。基于不同的化学性质，每一种Capturem产品都有其推荐的pH值范围，可以通过产品说明书进行查询。例如，Protein A系列推荐pH8，Protein G系列推荐pH5。

● 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

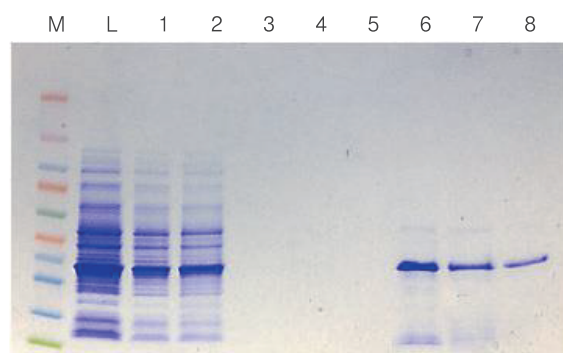


M : Marker L : Lysate F : Flowthrough
W : Wash E1 : Eluate 1 E2 : Eluate 2

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

1 mM、5 mM及10 mM的EDTA存在下，对含有6 \times 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 μ l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 μ l表达6 \times 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%

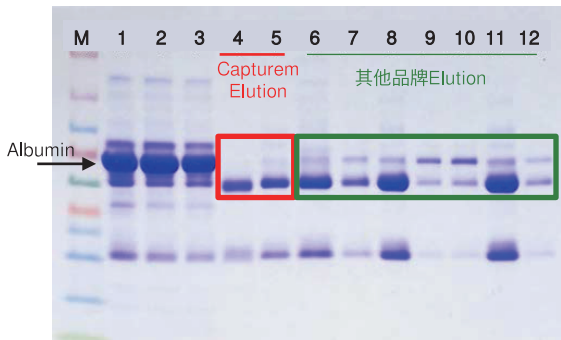
* 表中数据为本产品经测试能够兼容的试剂的最高浓度。

● 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.)

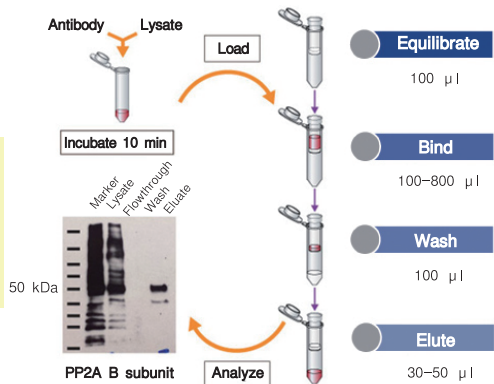
■ Protein A和Protein G对于不同来源和亚型抗体的亲和性

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	-	+	+
Rabbit	scFv	+	-	+		IgG2c	+++	+++	+++
					Rabbit	Total IgG	+++	+++	+++

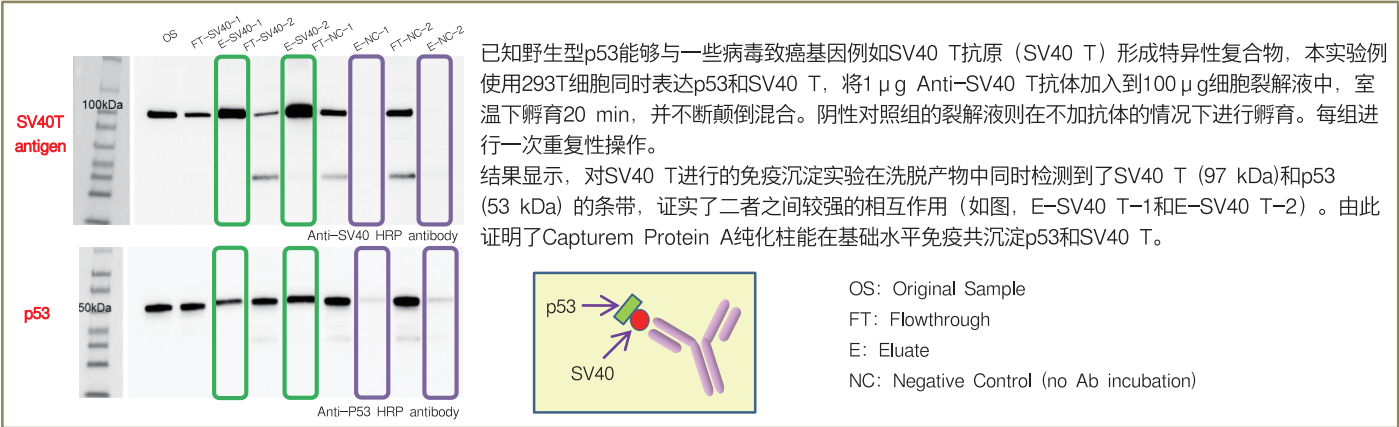
+++ strong binding ++ medium binding + weak binding - no binding

● 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

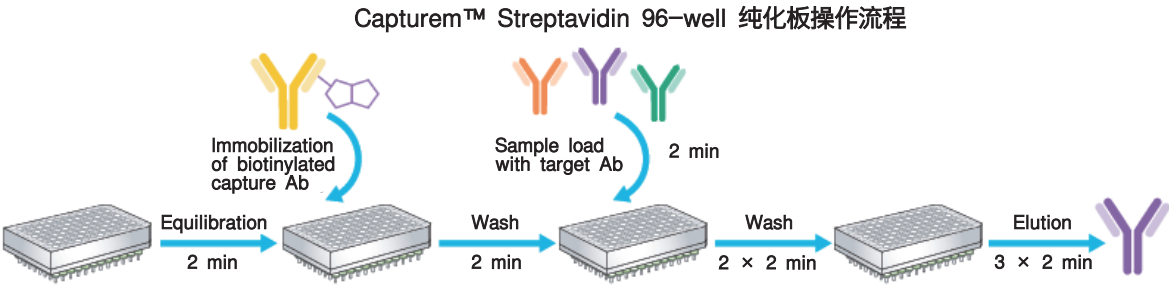


● 生物素化靶标的富集和纯化 Capturem™ Streptavidin

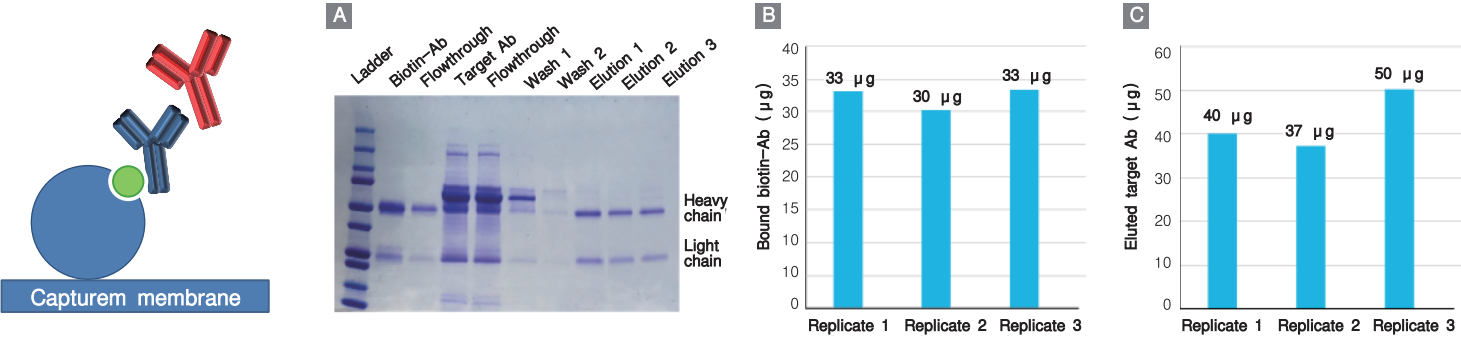
- 孔与孔之间具有高度重复性，保证了分析结果的一致性。
- 新型膜技术搭配一次性离心柱有效降低了污染和残留的风险。
- 样品停留时间短，从而有效地防止了样品聚集、失活，或者样品中复合物解离。

■ Capturem™ Streptavidin对不同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

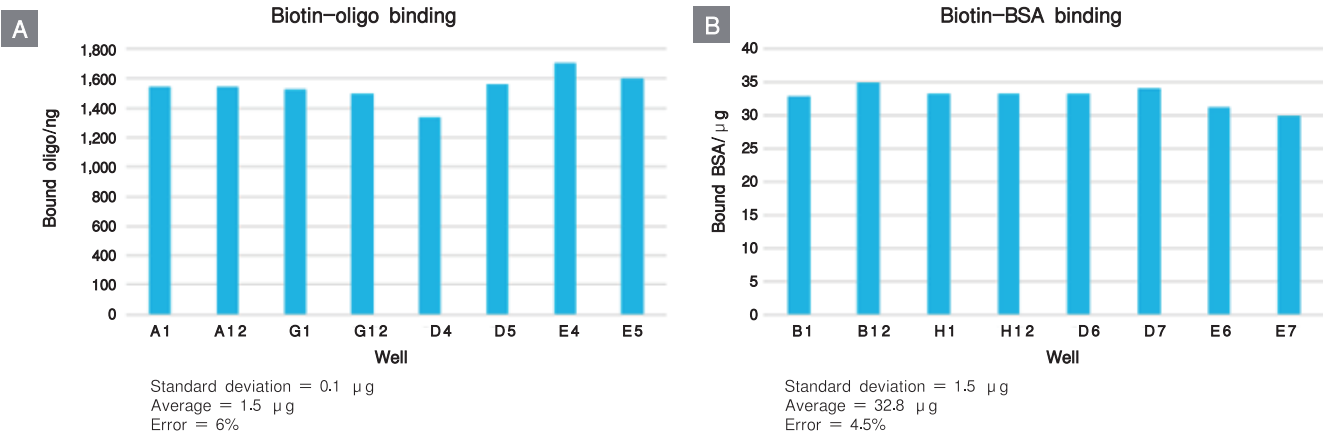


■ 使用Capturem™ Streptavidin连续三次捕获高纯度抗体



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 $32.0 \pm 1.4 \mu\text{g}$ (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 $42 \pm 5 \mu\text{g}$ (图C)。

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



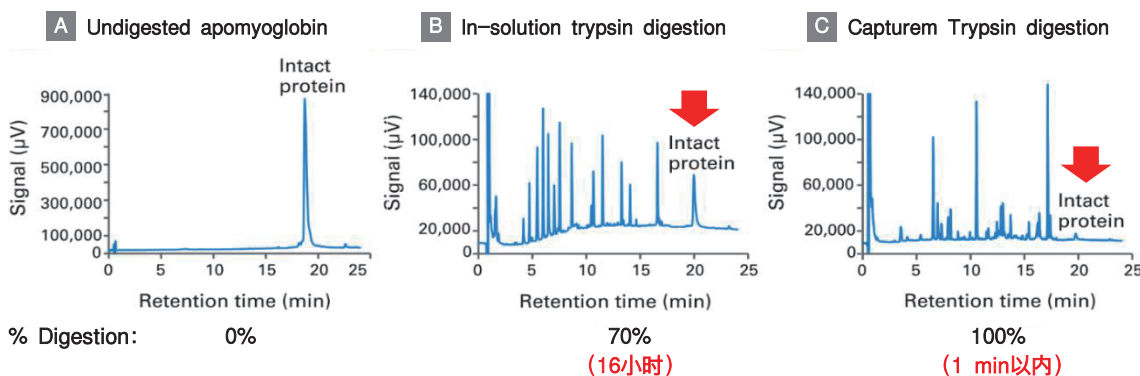
分别对生物素化oligo (图A) 和生物素化BSA (图B) 进行8次技术重复上样，并使用离心的方法进行靶标捕获。通过测定样品上样前后的OD值来对结合的分子进行定量。捕获操作按照标准的流程进行，15 min之内完成。

● 蛋白质酶解消化

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

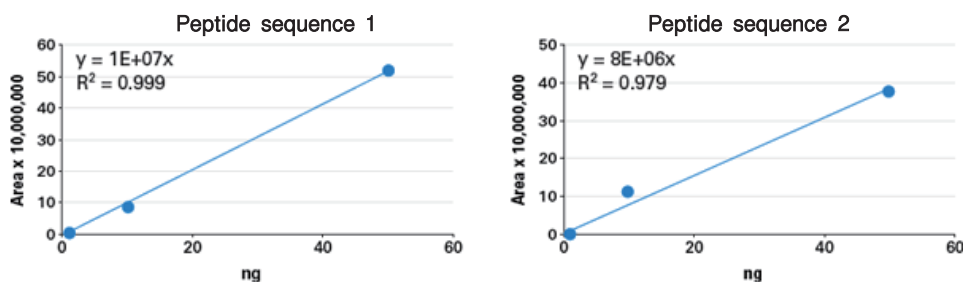
- 高效酶解消化蛋白质用于质谱鉴定，使蛋白质组学分析流程更加连贯。
- 操作快速，几分钟内即可酶解蛋白质样品，无需过夜处理。
- 比溶液法效率更高，酶解更彻底，且不易出现过度酶解。
- 样品中自溶片段更少，蛋白质非特异性修饰几率更低。

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



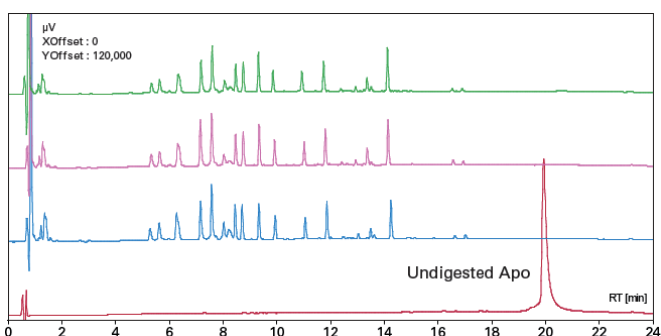
Capturem™ Trypsin 能够快速、完全酶解目的蛋白质。

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

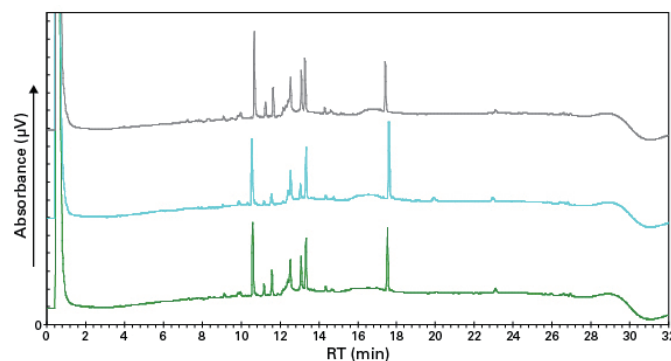


Trypsin离心法消化SILuLite可产生ng级别 (1, 10, 50 ng) 的可检测替代肽段。特异性肽段的AUCs具有线性相关性。

■ 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。

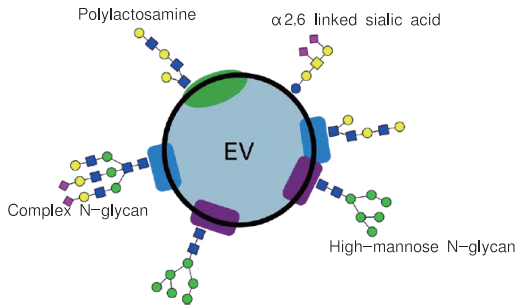


使用5%的甲酸稀释50 μg的Apo，选择3个不同批次的Capturem™ Pepsin对其进行消化，HPLC结果显示，三组消化产物具有相同的片段，说明Capturem™ Pepsin具有良好的重复性。

● 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 μ l (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

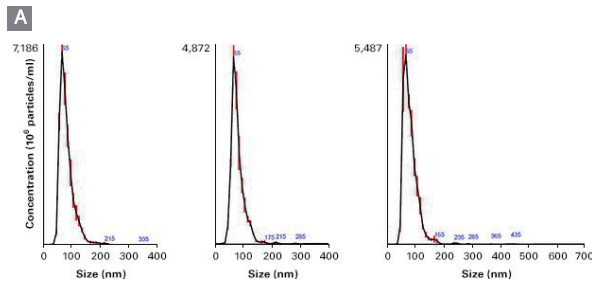


- EV的表面富含碳水化合物和糖基化蛋白质
- 基于凝集素的试验已被证明能够用于捕获EV来进行糖工学分析
- Capturem EV提取试剂盒使用固定化的基于凝集素的化合物来分离EV

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

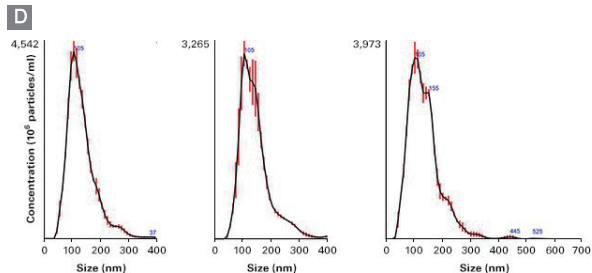


B

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 μ l 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

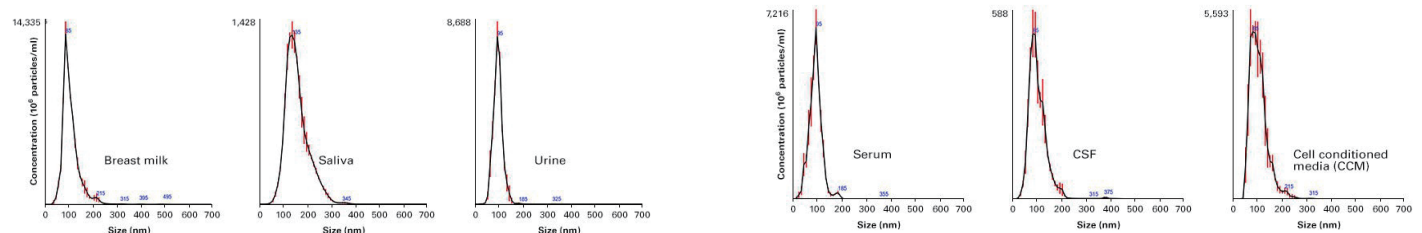


B

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 μ l	80 μ g
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Kit	635713	6 Purifications	23 ml	1.5 mg
Capturem™ His-Tagged Purification 96-Well Plate	635714	1 \times 96 well plate	1 ml	80 μ g
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 \times 24 well plate	4 ml	800 μ g
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 μ l	40 μ g
Capturem™ Protein A Maxiprep Columns	635720	6 Columns	23 ml	1 mg
Capturem™ Protein A 96-Well Plate	635716	1 \times 96 well plate	1 ml	40 μ g
Capturem™ Protein A 24-Well Plate	635731	1 \times 24 well plate	4 ml	400 μ g
Capturem™ Protein A 24-Well Plate - HC	635743	1 \times 24 well plate	4 ml	400 μ g
	635742	4 \times 24 well plate		
Capturem™ Protein A Buffer	635746	100 ml	–	–
Capturem™ Protein G Miniprep Columns	635725	10 Columns	850 μ l	60 μ g
Capturem™ Protein G 96-Well Plate	635726	1 \times 96 well plate	1 ml	60 μ g
Capturem™ Protein G Maxiprep Columns	635727	6 Columns	23 ml	1.2 mg
Capturem™ Protein G 24-Well Plate	635732	1 \times 24 well plate	4 ml	600 μ g
Capturem™ Protein G 24-Well Plate - HC	635745	1 \times 24 well plate	4 ml	600 μ g
	635744	4 \times 24 well plate		
Capturem™ IP & Co-IP Kit	635721	12 Purifications	850 μ l	–
生物素化靶标的富集和纯化				
Capturem™ Streptavidin Miniprep Columns	635733	20 Columns	850 μ l	25 μ g IgG ^{*1}
Capturem™ Streptavidin 96-Well Plate	635734	1 \times 96 well plate	1 ml	25 μ g IgG ^{*1}
蛋白质酶解消化				
Capturem™ Trypsin 96-Well Plate (Mass Spectrometry Grade)	635737	1 \times 96 well plate	1 ml	25 μ g IgG ^{*2}
	635736	4 \times 96 well plate	1 ml	
Capturem™ Trypsin Miniprep Kit (Mass Spectrometry Grade)	635740	20 Rxns	850 μ l	25 μ g IgG ^{*2}
Capturem™ Trypsin Activation Buffer	635739	50 ml	–	–
Capturem™ Pepsin Miniprep Kit	635728	20 Rxns	850 μ l	25 μ g IgG ^{*2}
细胞外囊泡提取				
Capturem™ Extracellular Vesicle Isolation Kit (Mini)	635741	20 Minipreps	850 μ l	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 μ g 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



宝日医生物技术（北京）有限公司

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