

Simple Western ご使用メリット

① **リン酸化、転写因子**などの低発現サンプルの測定が可能になります。

従来法では感度不足で測定困難だった

☆“発現量が少ない”サンプル

☆“低分子&高分子”サンプル

が測定可能になります。

② 同定 + “**絶対定量**”が可能になります。

ダイナミックレンジが広く精度が高い為、ウエスタンなのに、検量線が引けます。

③ 研究効率の大幅向上

ウエスタンに掛ける研究時間

およそ1/3~1/6の軽減に繋がります。

1~2日かかっていた実験⇒

全自動で“3時間”

測定準備 (ハンドリング)は約30分

④ 今、問題視されている蛋白質の標準化が簡便になります。

総蛋白測定が簡便に行えます。

⑤ 取得データクオリティーが大幅に向上
従来法に比べCV (バラツキ値) が10%~20%低減いたします。

⑥ 動物実験の大幅削減

ローボリュームで測定を行うキャピラリー方式により、動物実験が1/3~1/20くらい低減



Simple Western

【論文多数アクセプト済】

キャピラリーによる新方式 ウェスタンブロット



泳動



イムノ検出



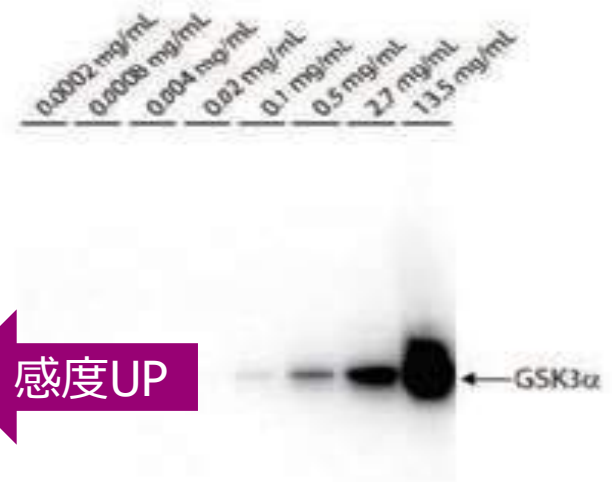
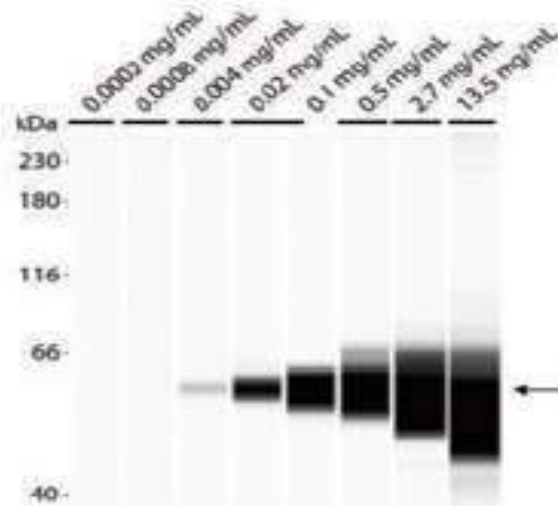
解析

わずか 3 時間!

従来のウェスタンブロットよりも高感度

Simple Western

Traditional Western



どこから全自動？

ゲル作成から、電気泳動、ブロットイング、抗体反応、撮影解析まで、全て全自動です！

従来法の工程 (1日~2日間)



従来法の工程を 約3時間(自動)

手作業
約30分間

* 2ターゲット以上測定する
RePlex使用時は約5時間



タンパク質解析が数倍迅速になります。

ウエスタンに掛かっていた時間が およそ1/3~1/6の軽減に繋がります。

1日~2日かかっていた実験⇒全自動で3時間 実際の測定準備 約30分

研究効率の大幅向上

全ての手作業準備時間が、
なんと約30~40分

下記を分注するだけ

- A列：サンプル
- B列：ブロッキング剤
- C列：一次抗体
- D列：二次抗体
- E列：発光試薬

3~15 μ L/Well

キャピラリー400nL/本

セットしてスタート



電気泳動~解析まで
全自動測定

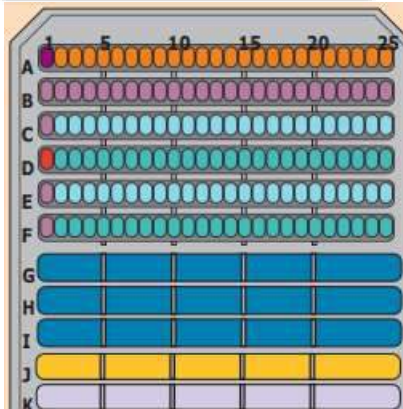
Wash Buffer

空きWell

<プリセット済み>
分離ゲル
濃縮ゲル
ゲル洗い出し液
泳動バッファー

RePlex 使用時

* 全てのウェルに分注します。



- Biotinylated Ladder, 5 μ L; ● 調整済サンプル, 3 μ L
- Antibody Diluent (2またはMilk-Free), 10 μ L
- Antibody Diluent (2またはMilk-Free), 10 μ L; □ 1回目のプローブ用一次抗体, 10 μ L
- Streptavidin-HRPまたはNIR, 10 μ L; □ 1回目のプローブ用二次抗体, 10 μ L
- Antibody Diluent (2またはMilk-Free), 10 μ L; □ 2回目のプローブ用一次抗体, 10 μ L
- Antibody Diluent (2またはMilk-Free), 10 μ L; □ 2回目のプローブ用二次抗体, 10 μ L
- Wash Buffer
1区画につき500 μ L
- Luminal-Peroxide混合液, 170 μ L/1区画 (化学発光使用時のみ)
- RePlex® reagent混合液, 300 μ L/1区画

装置の中を覗いてみよう



測定の流れ

スタートから
データ出力までわずか **3時間**



* キャピラリーカートリッジとプレートのセット

→ソフトウェアでSTART

* キャピラリー電気泳動の技術。

・キャピラリー内にマトリクスを充填

・サンプルを充填

・電気泳動で分離

* **ここがポイント！特許です。**

キャピラリー内で電気泳動後の状態でタンパク質を固定。

* ゲルマトリクスを洗い出し、ブロッキング液、1次抗体、HRP標識2次抗体、を順次キャピラリー内で反応させます。

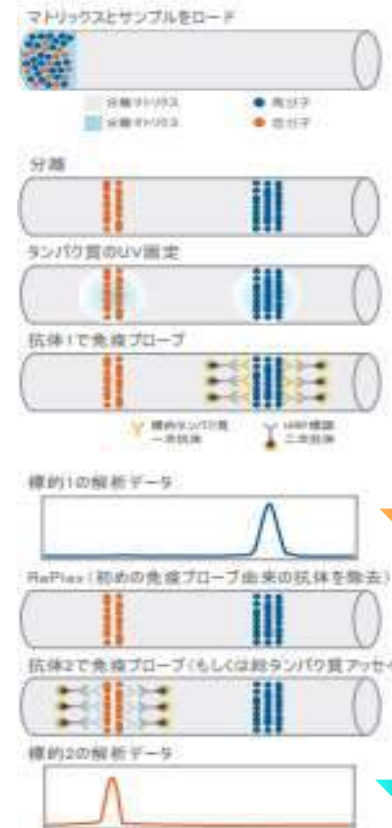
* 発光基質のロード及び CCDカメラで検出。

* 解析データの出力。
モレキュラーウエイト及び発光量を自動解析

RePlex使用時

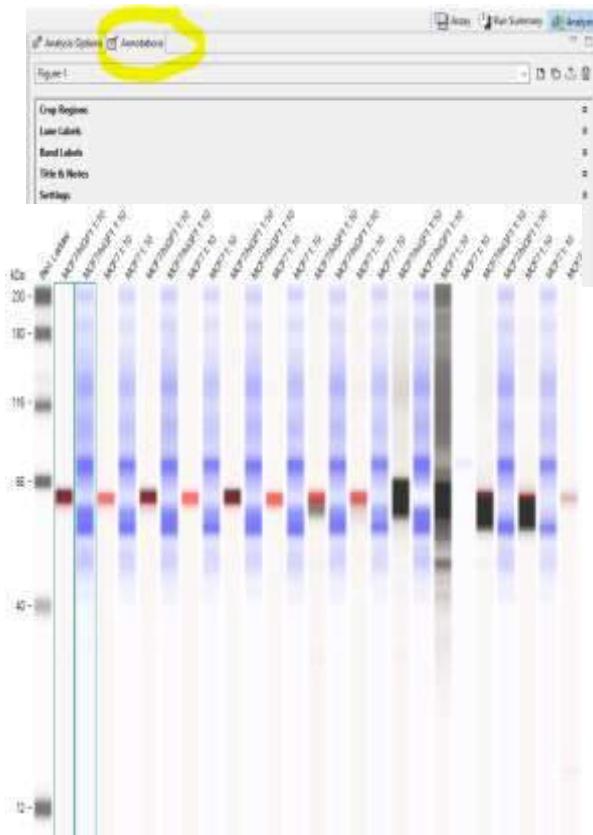


免疫プロービングと検出を2回/キャピラリー

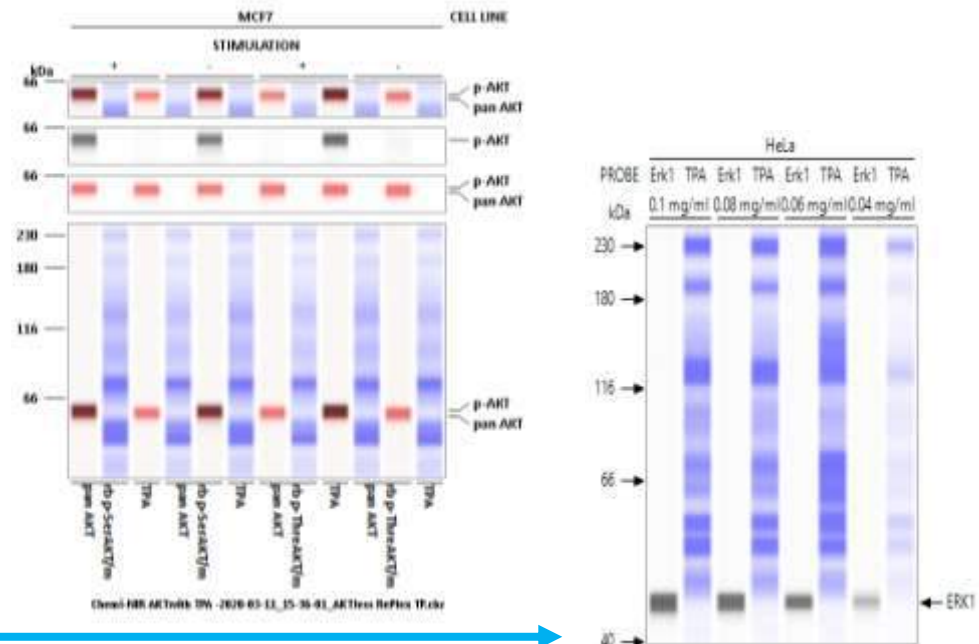
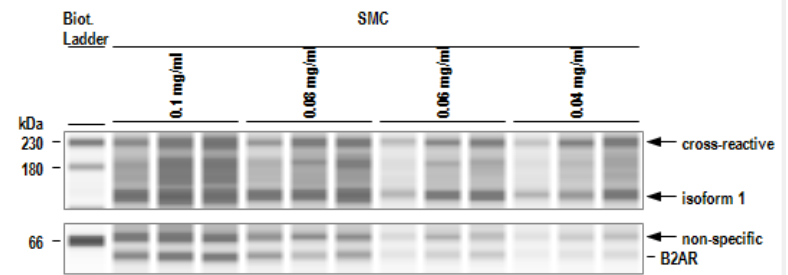


研究効率の大幅向上

Compassソフトウェアで、目的に合わせたデータ編集が簡単に作成できます！



元データ



編集後データ 例3種

蛋白測定の研究幅が広がります

従来法より優れてるポイントI

①転写効率の悪いタンパクが測定可能に！

【低分子・高分子タンパク測定が可能に】

2～440kDaが再現性良く測定可能に



Go Small!
2 kDa~



Go big!
440 kDa

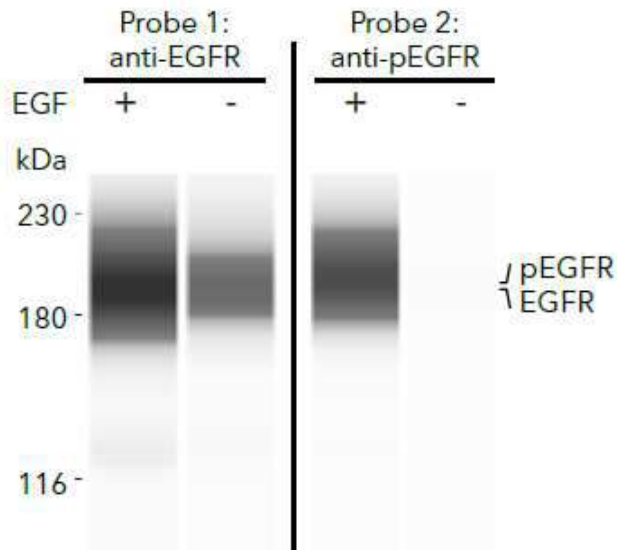
蛋白測定の研究幅が広がります

従来法より優れてるポイントII

【リン酸化などの“発現量が少ない”サンプルも従来法より高感度なので測定可能性UP】

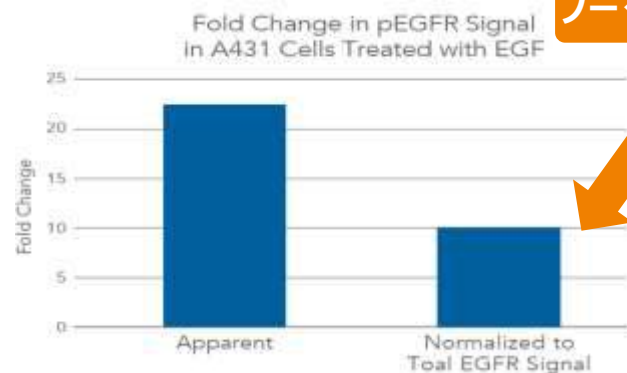


同一レーン（キャピラリー）内でのトータル・リン酸化ターゲットアッセイ



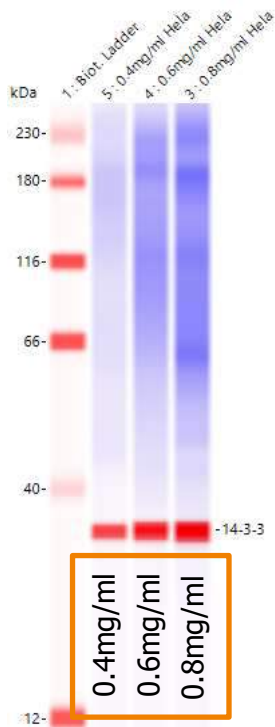
RePlexによる
2ターゲット測定

Sample	Primary	Cap	Name	MW (kDa)	Area	Corr. Area	S/N
A431 + EGF	anti-EGFR	P1:4	EGFR	195	449169.7	203337.7	639.9
A431 Untreated	anti-EGFR	P1:5	EGFR	195	203337.7	203337.7	198.2
A431 + EGF	anti-pEGFR	P2:4	pEGFR	200	3254280.1	1473202.4	9153.4
A431 Untreated	anti-pEGFR	P2:5	pEGFR	195	148255.3	148255.3	521.6

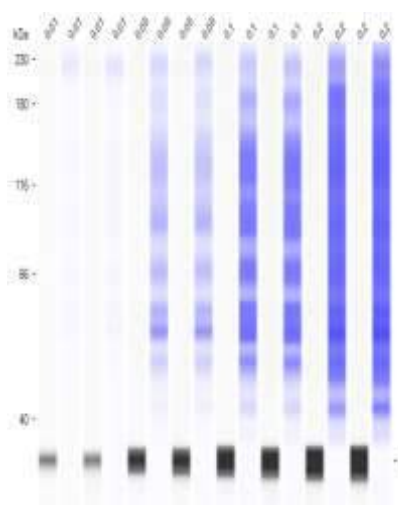


ノーマライズした目的タンパク量

今、問題視されている蛋白質の標準化が 簡便になります。



蛍光
(Jess Only)

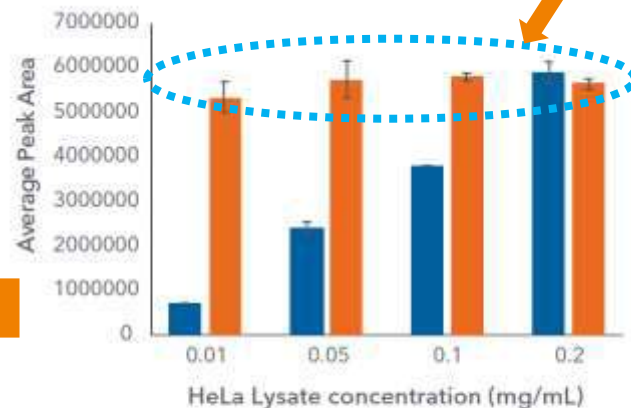


総蛋白

目的タンパク

発光RePlex
(Jess & Abby)

ノーマライズした目的タンパク量



Normalize your data with total protein detection in the same capillary using RePlex. HeLa lysates (0.01 - 0.2 mg/mL) were separated and probed with a 14-3-3 antibody in Probe 1 followed by the Total Protein Assay in Probe 2. Protein normalization using RePlex shows comparable 14-3-3 signal across increasing concentrations of HeLa lysate.

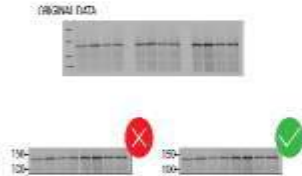
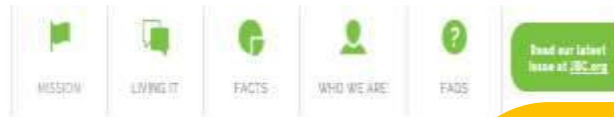
ノーマライズした目的タンパク量

Sample	Primary	Secondary	Cap	Peak	Name	Position	MW (kDa)	Height	Area	% Area	Corr. Area	Width	S/N	Baseline
0.01	14-3-3	IA + TPA	P1:2	1	14-3-3	303	35	76489.7	725008.1	100.0	725008.1	8.9	311.5	9141.1
0.05	14-3-3	IA + TPA	P1:3	1	14-3-3	302	35	241773.6	2314929.2	100.0	707321.5	9.0	835.4	10089.9
0.1	14-3-3	IA + TPA	P1:4	1	14-3-3	302	35	372834.7	3803966.4	100.0	760982.6	9.6	1591.4	10909.5
0.2	14-3-3	IA + TPA	P1:5	1	14-3-3	302	35	552496.9	5726353.9	100.0	743302.9	9.7	1716.7	11963.1
0.01	14-3-3	IA + TPA	P1:9	1	14-3-3	303	35	73786.7	722600.4	100.0	662279.7	9.2	248.8	11213.0
0.05	14-3-3	IA + TPA	P1:10	1	14-3-3	303	35	248858.7	2505012.1	100.0	783771.3	9.5	700.1	11518.4
0.1	14-3-3	IA + TPA	P1:11	1	14-3-3	303	35	374130.4	3804945.6	100.0	746397.4	9.6	1394.8	12290.2
0.2	14-3-3	IA + TPA	P1:12	1	14-3-3	302	35	573322.4	6076508.4	100.0	721977.6	10.0	1429.1	12838.5

米国雑誌の方針

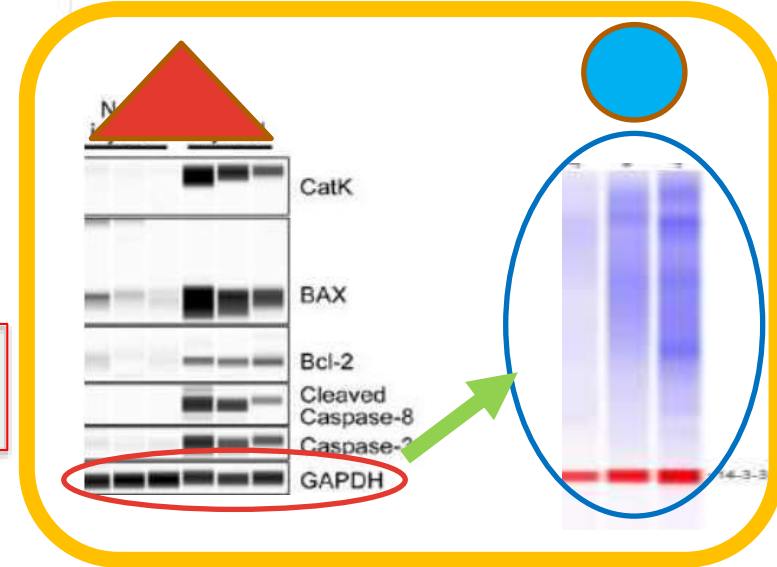
JBC

JOURNAL OF
BIOLOGICAL
CHEMISTRY



Record how data were obtained, whether signal intensity was linear with antigen loading, and how protein loading was normalized. Some detection methods (e.g., ECL) have a very limited linear range.

Normalize signal intensity to **total protein loading** (assessed by staining membranes for total protein) whenever possible. "House-keeping" proteins should not be used for normalization without evidence that manipulations do not affect expression. Phospho-specific antibody signals should be normalized to total levels of the target protein.

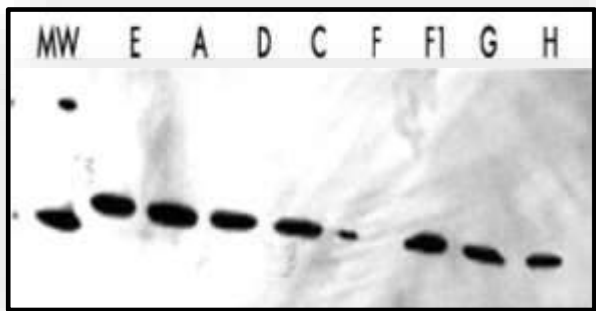


- **シグナル強度は、総タンパク質で標準化すること。**
ハウスキーピング蛋白質での標準化は、発現量の解析に悪い影響がないという証拠無しに標準化には用いてはならない。
- **リン酸化抗体によるシグナルは、その目的蛋白質の総タンパク質で標準化すること。**

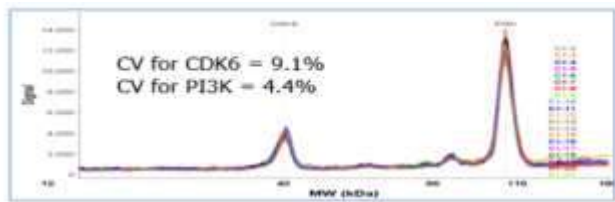
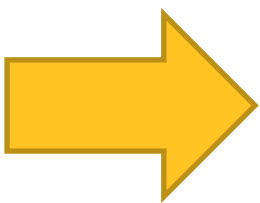
ハウスキーピング蛋白質とは、多くの組織や細胞中に共通して一定量発現する蛋白質のことで、ローディングコントロールとして定量されてきた。

(Actin, Tubulin, Cyclophilin A, GAPDH, Vinculinなどのタンパク質が知られる。)

取得データクオリティの大幅向上

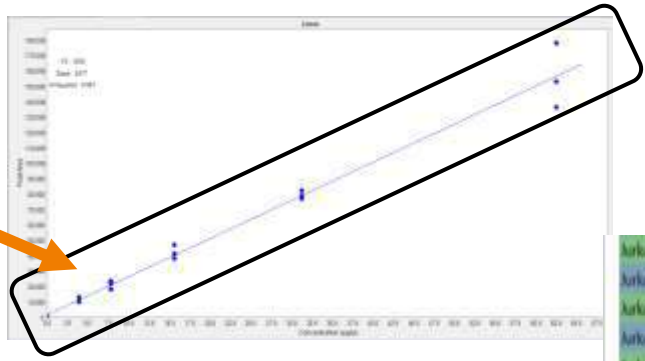
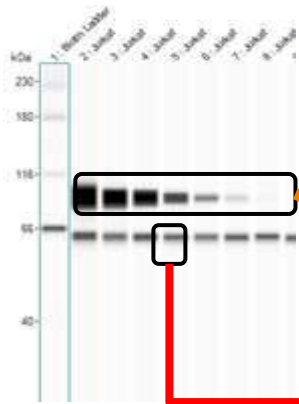


従来法



SimpleWestern

従来法に比べCV（バラツキ値）が10%~20%低減いたします。



Arkat	Anti...	C1:12	2	rec.	535	94	1320.	1365.	75.7	62.50	9.7	67.	121.3
Arkat	Anti...	C1:13	1	AKT1	496	64	4235.3	44507	36.6	17.23	9.9	30.	113.4
Arkat	Anti...	C1:13	2	rec.	534	95	7160.9	77229	63.4	31.25	9.9	52.	104.6
Arkat	Anti...	C1:14	1	AKT1	498	63	3970.7	44205	53.6	17.11	10.5	30.	129.2
Arkat	Anti...	C1:14	2	rec.	535	94	3681.9	38299	46.4	15.60	9.8	27.	129.9
Arkat	Anti...	C1:14	1	AKT1	498	63	4235.3	44507	36.6	17.23	9.9	30.	113.4

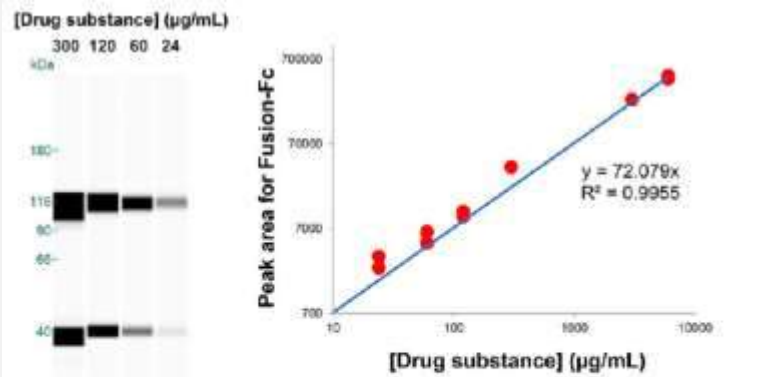
17.83 (pg/ul)

ELISAレベルの定量測定も可能になります。

取得データクオリティーの大幅向上

バイオ医薬品蛋白質
の“絶対定量”

- 3倍以上のダイナミックレンジ
- 優れた直線性
- 高精度の定量性
- 測定者によるバラツキ無し



D. Xu et al., *Electrophoresis*, 2015; 36, 363–370

Contents lists available at ScienceDirect
Analytical Biochemistry
journal homepage: www.elsevier.com/locate/yabio

Absolute quantitation of endogenous proteins with precision and accuracy using a capillary Western system

Jin-Qiu Chen^{a,*}, Madeleine R. Heldman^a, Michelle A. Herrmann^a, Noemi Kedei^b, Wonhee Woo^b, Peter M. Blumberg^b, Paul K. Goldsmith^c

^a Collaborative Protein Technology Resource, Laboratory of Cell Biology, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA
^b Laboratory of Cancer Biology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA
^c Office of Science and Technology Partnership, Office of the Director, Center of Cancer Research, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA

ARTICLE INFO

Article history:
Received 16 May 2013
Received in revised form 13 July 2013
Accepted 16 July 2013
Available online 26 July 2013

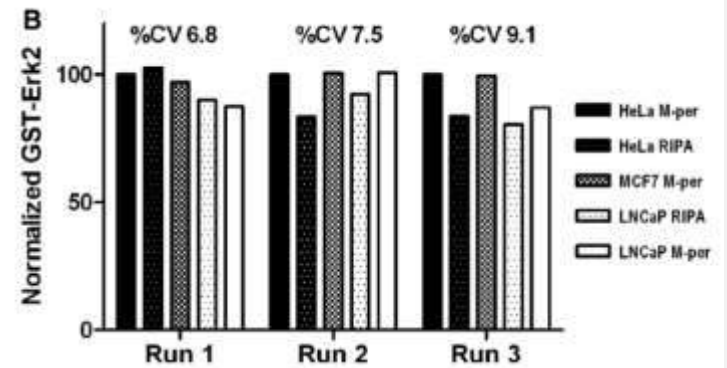
Keywords:
Protein kinase C (PKC)
Capillary immunosay
Simple Western
Quantitative protein analysis

ABSTRACT

Precise and accurate quantification of protein expression levels in a complex biological setting is challenging. Here, we describe a method for absolute quantitation of endogenous proteins in cell lysates using an automated capillary immunoassay system, the size-based Simple Western system (recently developed by ProteinSimple). The method was able to accurately measure the absolute amounts of target proteins at picogram or sub-picogram levels per nanogram of cell lysates. The measurements were independent of the cell matrix or the cell lysis buffer and were not affected by different antibody affinities for their specific epitopes. We then applied this method to quantitate absolute levels of expression of protein kinase C (PKC) isoforms in LNCaP and U937 cells, two cell lines used extensively for probing the downstream biological responses to PKC targeted ligands. Our absolute quantitation confirmed the predominance of PKC δ in both cells, supporting the important functional role of this PKC isoform in these cell lines. The method described here provides an approach to accurately quantitate levels of protein expression and correlate protein level with function. In addition to enhanced accuracy relative to conventional Western analysis, it circumvents the distortions inherent in comparison with signal intensities from different antibodies with different affinities.

Published by Elsevier Inc.

NIH の研究者が、Simple Western を使用することで、複雑な生物学的設定におけるタンパク質発現レベルの正確な定量化がどのように可能になるかを説明しています。
「Simple Western は、pg , sub-pg レベルでタンパク質の目標量を正確に測定した。」



動物実験の大幅削減 (ターゲットサンプルによります)



ランニングコスト低減メリット

サンプル量の低減

Chemiluminescence



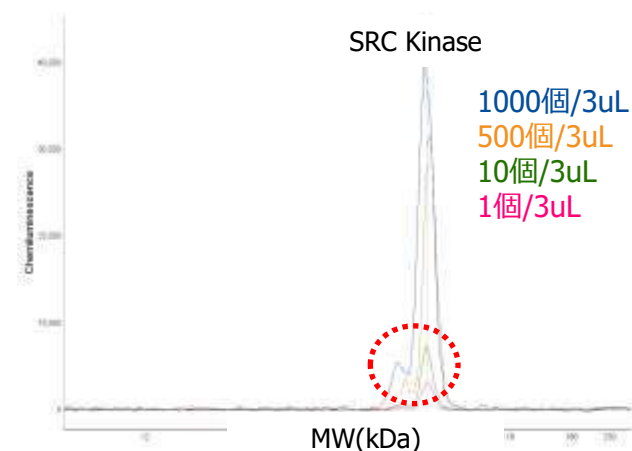
従来法
10~20uL/レーン

SimpleWestern
約0.04uL(400nL)/レーン(本)
* 準備に3uL/レーン

ローボリュームで測定を行うキャピラリー方式により、動物実験がおおよそ1/3~1/20くらい低減致します。(ターゲットサンプルによります)

少細胞数での測定《事例》

標的	細胞数限界 (細胞数/ウェル)
ERK 1/2	1-10細胞
Thioredoxin	1-10細胞
Hsp60	<1細胞*
PI3K	1-10細胞
PLC-Gamma	1-10細胞
SRC	<1細胞*
4E-BP1	1-10細胞



*1細胞で良好なシグナル!

ランニングコスト低減メリット



抗体使用量の低減

A:メンブレン1枚分（12～15レーン）での比較

抗体のパフォーマンスにも由来しますが、平均的に1/2～1/10くらい使用量が削減されます

		従来法WB	SimpleWestern	
例:AKT R&D社 AF887	Working conc. $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.5	5	
	希釈後分注液量mL 12レーン分	5	0.12	
	抗体使用 ug	$0.5 \times 5 = 2.5$	$5 \times 0.12 = 0.6$	約1/4低減

例:Smad7 Novous社 MAB2029	Working conc. $\mu\text{g}/\text{mL}$	1	10	
	希釈率 ug/uL	0.001	0.01	
	希釈後分注液量mL 15レーン分	5	0.15	
	抗体使用 ug	$1 \times 5 = 5$	$10 \times 0.15 = 1.5$	約1/3低減

例:Acetyl- Histone H3 CST社 #9649	Working conc. $\mu\text{g}/\text{mL}$	1	4	
	希釈後分注液量uL 12レーン分	5	0.12	
	抗体使用 ug	$1 \times 5 = 5$	$4 \times 0.12 = 0.48$	約1/10低減

* 上記の情報元は、各メーカーのデータシートと、プロテインシンプルの抗体測定実績データベースとなります。

R&D社とNovus社の抗体は、データシート上にSimpleWesternでの希釈率情報もごさいます。

* 希釈後使用液量は、従来法(5mL→2mL)同様に、SimpleWestern(120uL→50uL)くらいに液量をセーブしているケースもごさいます。

ランニングコスト低減メリット



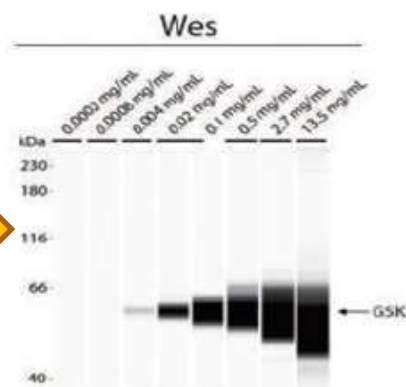
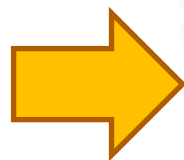
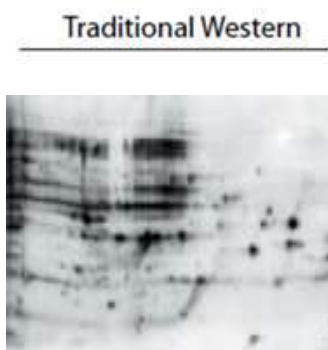
抗体使用量の低減

B: 1 ターゲット当たりの測定総枚数の低減

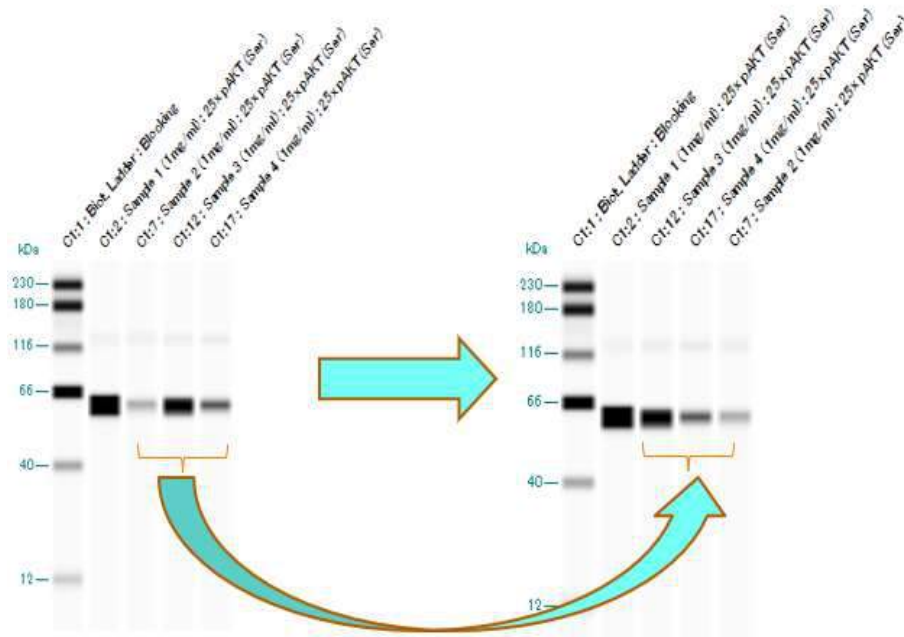
従来法WBより1/3~1/7以下くらいまで測定数が低減

i) 1 RUNにおける測定成功率が高い

「電気泳動⇒プロット⇒抗体反応⇒撮影解析」を全自動で行える為、人為的なエラーが10~40%ほど低減



✓ データ取得後のレーンの並べ替えが可能です！



ii) レーンの並べ替えが自由に行える
測定原理上、各レーンが独立した
データとして扱える為、従来法で
繰り返されていたレイアウト変更の為の
余分な測定が大幅に低減

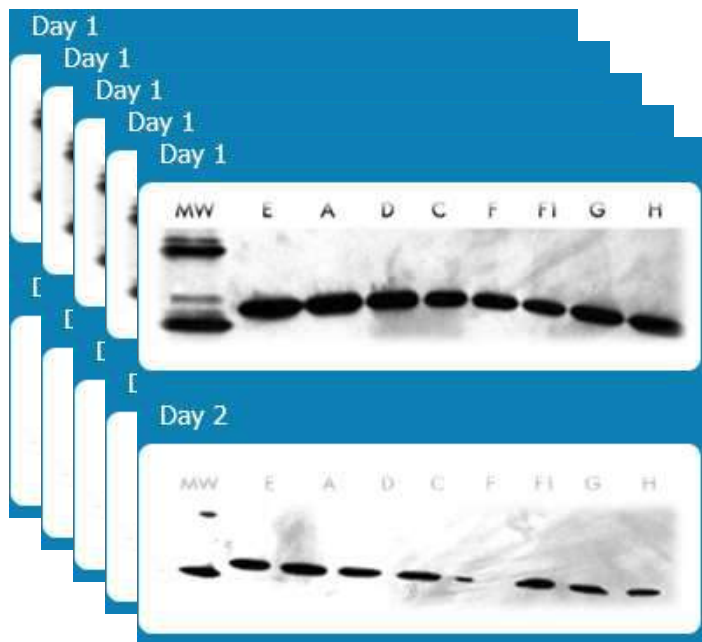
ランニングコスト低減メリット



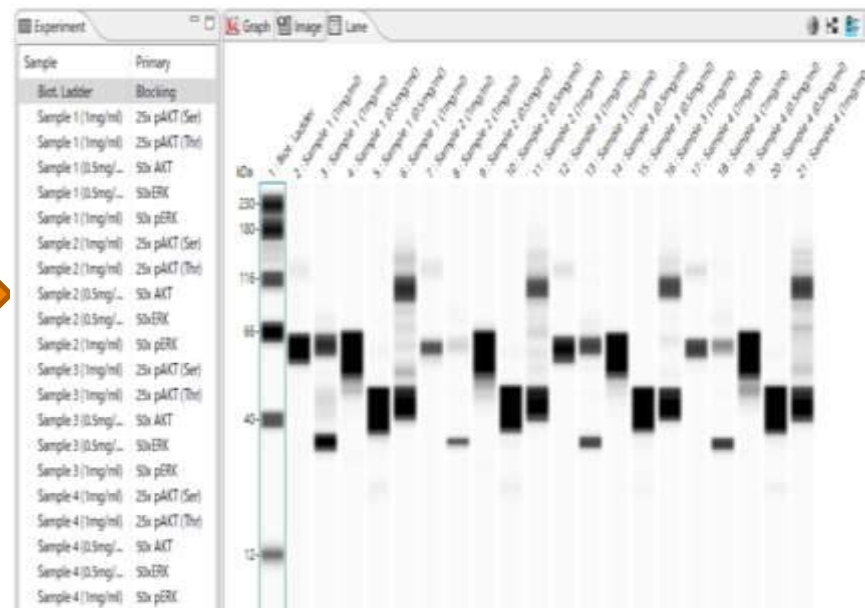
抗体使用量の低減

C:WBアッセイ開発時での測定総枚数の低減
従来法WBより1/3~1/5以下くらいまで測定数が低減

SimpleWestern法では、従来法での**「1枚で1条件」**しか振れなかった、「ライシスバッファー、ブロッキング剤、抗体、発光試薬」の検討が、**「1レーンで1条件」**すなわち、各レーン（最大24レーン）で1 RUN3時間で検討が行えます。



例：サンプル4つ&抗体5種Total AKT, pAKT(Ser,Thr), Total ERK, pERK



*「従来法WBだと再現性の確認や数値化を目的とする場合、SimpleWestern測定より約3倍~5倍量の測定を行い平均化する必要性があり、結果的にかなりの時間とランニングコストがかかるのが実態だと思います。」（実際のユーザー様の声）

ランニングコスト低減メリット(Jess Abby)



キャピラリーの2度使用によるコスト約40%減(vs 1度使用)

E:**RePlex** > 従来法のストリッピング & リプロービングのように、
キャピラリーを2度連続で使用できるようになりました！

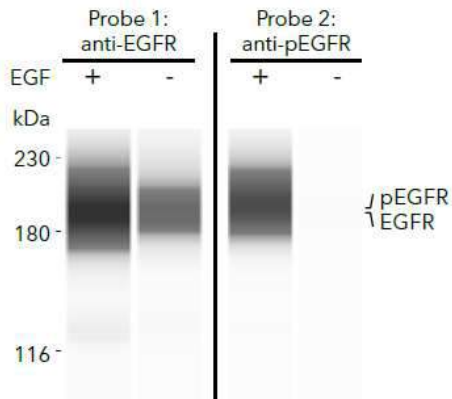
タンパク質はキャピラリー内で共有結合により強固に固定されているので、バラつかず理想的なリプローブが可能です。



タンパク質は強固に固定されているので最適化なして、一回目の抗体をしっかり取り除けます。

すなわち

2回目の反応精度は損なわれません。



イムノブローピングと検出を2回/キャピラリー

従来法でのストリッピング - リプローブは理想的でなく、バラツキ易いです。

★ ストリッピングによりメンブレンからタンパク質を失い易く、定量性に疑問があります。

- タンパク質はメンブレンに転写されただけで強く結合していません。
- 標的の損失 / 保持はタンパク質により異なります。

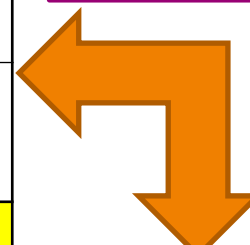
補足①

前半工程部分（電気泳動、トランスブロット）のランニングコスト（消耗品）比較



【例】 従来のウェスタンブロット ランニングコスト					
ステップ	内容	単価	Run回数	ゲル1枚 (12レーン)	1レーンあたり
電気泳動	・プレキャストゲル NuPAGE Novex4-12% (15wells) 8 c m x 8 c m (10Gel)	¥24,700	10	¥2,470	¥464
	・泳動バッファー NuPAGE MES SDS Running Buffer20x5 0 0 m l	¥11,700	5	¥2,340	
	・酸化防止剤 NuPAGE Antioxidant (15ml)	¥4,700	30	¥157	
	・サンプル調整 NuPAGE Sample Reducing Agent (10mL)	¥10,400	100	¥104	
	・分子量スタンダード（マーカー） SeeBluePlus2Pre-StainedStandaard (500μL)	¥24,800	50	¥496	
トランスブロット	・トランスバッファー NuPAGE Transfer Buffer 10x (125mL)	¥4,700	5	¥940	¥128
	・メンブレンフルオロトランスWメンブレン PVDF 2 6 c mx3.3mロール	¥33,000	100	¥330	
	・ブロットホルダー (7.5x8.4cm)	¥27,000	100	¥270	
定価ベース 合計				¥7,107	¥592

実納入価ベースだと、約3倍前後の価格に開きが出ます。
 （従来法の方が値引率高い事、メーカー指定回数より多くする機会が多い為）
RePlex使用時は、従来法とほぼ同額になります。



SimpleWestern システム ランニングコスト	
Abby/Jess 25キャピラリー（25レーン）1セット	Abby/Jess 13キャピラリー（13レーン）1セット
上記の従来法と同一内容のkit *1RUN測定分<25レーン分> 定価 ¥22,990	上記の従来法と同一内容のkit *1RUN測定分<13レーン分> 定価 ¥14,900
1レーンあたり	1レーンあたり
定価ベース ¥920 (RePlex使用時¥460)	定価ベース ¥1,146 (RePlex使用時¥573)

* 上記の価格はすべて“定価”となりまして、実際の納入価を消耗品だけ比較すると「電気泳動⇒ブロット」のコストが、【1RUN分のみ】ではSimpleWesternの方が2,3倍割高になりますが、複数回の測定を実施していき、**サンプル、抗体量等を比較すると、トータルでランニングコストが従来法より低減するケースが多数ございます。**

補足②

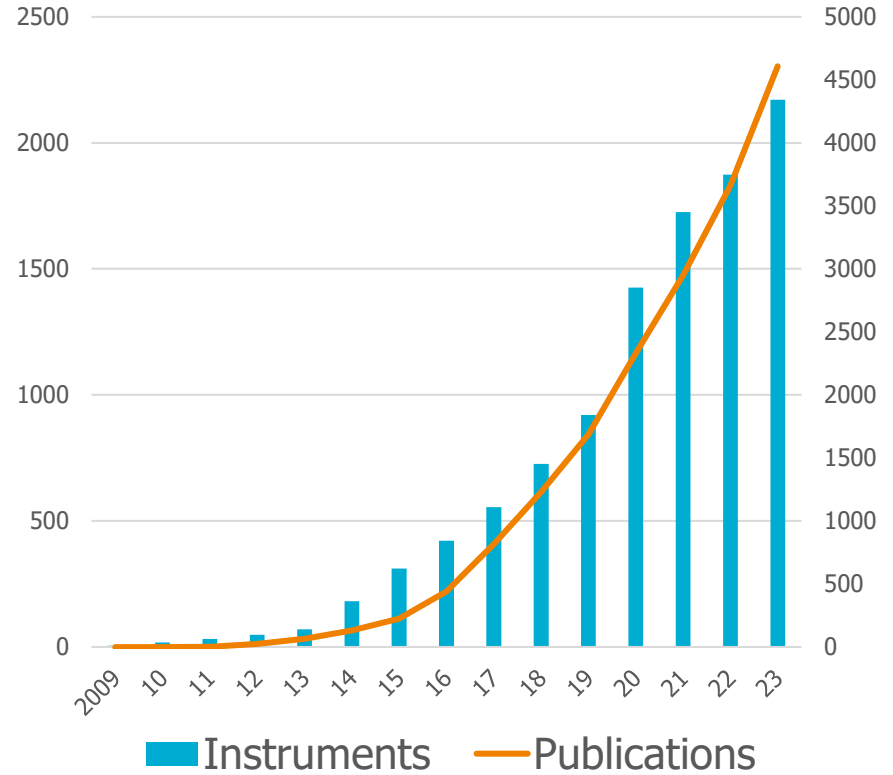
導入実績

年間平均成長率
49% UP

施設名	地域	Jess	Abby	Wes	Total
東京大学	関東	8	2	10	20
大阪大学	関西	6	2	10	18
京都大学	関西	5		7	12
九州大学	九州	1	2	8	11
名古屋大学	中部	2	2	3	7
徳島大学	四国	2		5	7
筑波大学	関東		2	4	6
長崎大学	九州	2		4	6
理化学研究所				6	6
慶應義塾大学	関東	1		3	4
国立感染症研究所	関東	1		3	4
広島大学	中国			4	4
東北大学	東北		1	3	4
熊本大学	九州		2	2	4
三重大学	中部		1	3	4
金沢大学	北陸	1		2	3
北海道大学	北海道	1		2	3
国立精神・神経医療研究センター	関東		2	1	3

論文数

納入台数



国内 納入台数 450台超



(9年間)

- ・京都大学(医、農、工,iCeMS、iPS研) 12台
- ・大阪大学(医,歯,蛋白研,薬,微研,免疫) 18台
- ・神戸大学(医,工) 2台 ・医薬基盤研
- ・奈良県立医科大学 2台 ・情報通信研究構
- ・京都府立医科大学 2台 ・京都産業大学
- ・京都府立大学(生命) ・兵庫医科大学
- ・大阪医科大学 ・大阪歯科大学
- ・国立循環器病センター ・和歌山医科大学(薬)
- ・地球環境産業技術研究機構(RITE)
- ・理化学研究所 神戸 ・日本食品分析センター

関西

- ・名古屋大学 (医、工、環境医学研) 7台
- ・名古屋市立大学 薬 ・藤田医科大学 3台
- ・金沢大学 医 3台 ・富山大学 (医,工) 3台
- ・国立長寿医療研究C ・岐阜医療科学大学 薬
- ・三重大学4台 ・新潟大学 医
- ・静岡がんセンター ・フィルジエン

東海北陸

- ・広島大学 医 4台 ・酒類総合研究所
- ・岡山大学 自然研 ・岡山県生物科学研究所
- ・山口東京理科大学 薬
- ・島根大学 医 ・鳥取大学 染色体センター

中国

- ・徳島大学 (医、歯、薬、工) 7台
- ・愛媛大学 医 ・香川大学 医 2台
- ・高知工科大学 理工学 ・産総研四国C

四国

- ・東京大学 (医、薬、農、医科研) 20台
- ・理化学研究所 6台 ・筑波大学 6台
- ・慶應義塾大学 4台 ・早稲大学 先端生命
- ・順天堂大学 2台 ・東海大学 医
- ・自治医科大学 2台 ・東京医科歯科大学
- ・昭和大学 2台 ・松本歯科大学
- ・東京慈恵会医科大学 ・星薬科大学
- ・横浜市立大学 医 ・東京工業大学 2台
- ・国立がんセンター2台 ・国立感染症研究所 4台
- ・国立精神/神経医療研究C 3台 ・日本医科大学
- ・国立環境研究所 ・動物衛生研究所
- ・国立国際医療センター研究所 2台 ・東京医科大学
- ・国立医薬品食品衛生研究所 ・高崎健康福祉大学
- ・量子科学技術研究開発機構
- ・放射線医学総合研究所 ・日本医科大学
- ・東京都健康長寿医療センター研究所
- ・群馬医療福祉大学 ・家畜改良事業団

関東

- ・九州大学 (医、薬、工、農) 11台
- ・東北大学 医 4台 ・産業医科大学
- ・長崎大学 (原医研、医歯薬) 6台
- ・熊本大学 4台 ・熊本保険科学大学
- ・福岡歯科大学 ・大分大学 ・佐賀大学
- ・沖縄科学技術大学院大学 ・宮崎大学
- ・弘前大学 医 ・宮城がんセンター
- ・北海道大学 3台 ・札幌医科大学2台
- ・北海道農業研究C ・帯広畜産大学

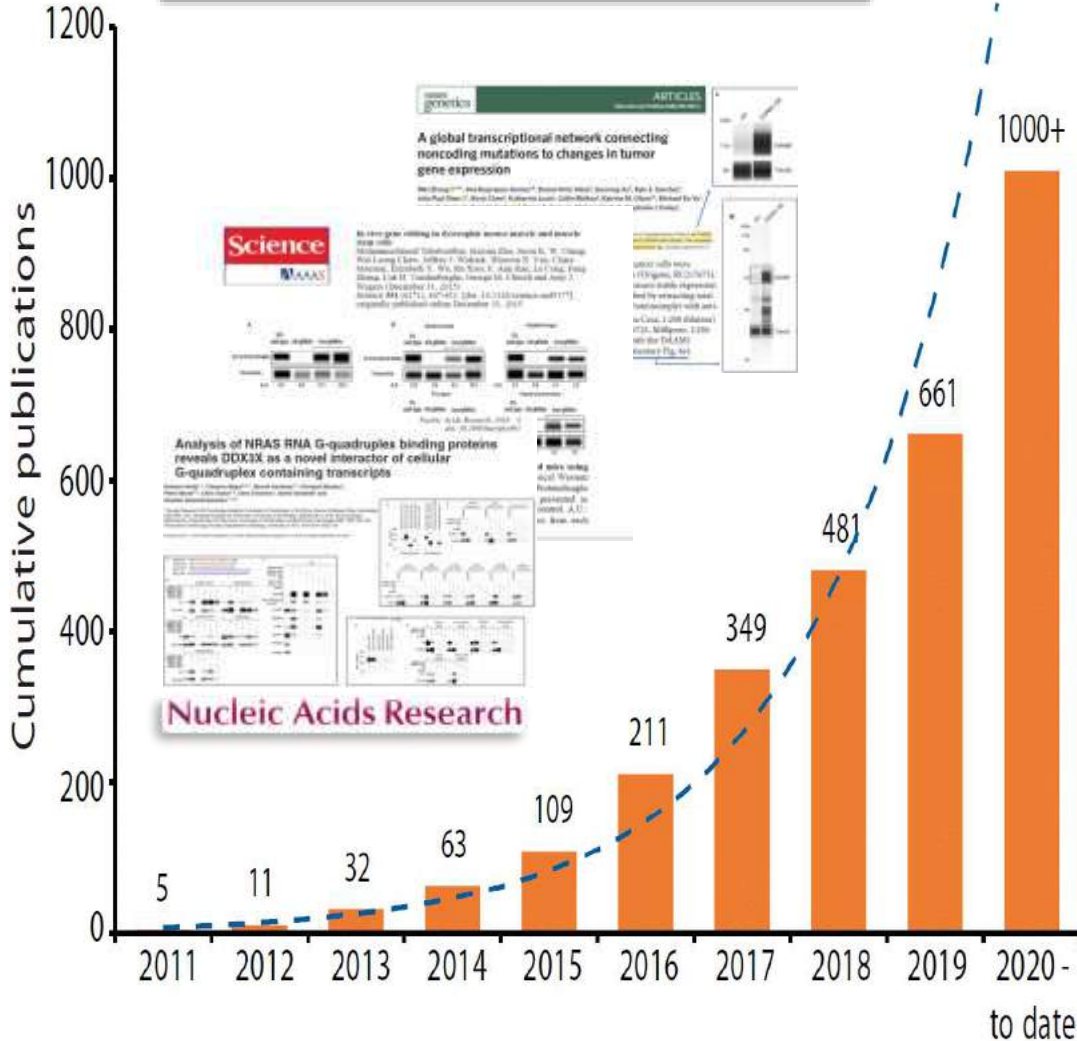
九州
東北
北海道

補足③

論文実績

ほとんどのPublicationsで
"SimpleWestern"データ掲載されてきてます!

1,000報を超えました!



Articles:
A global transcriptional network connecting noncoding mutations to changes in tumor gene expression

Science
MAAS

Nucleic Acids Research

PNAS

PNAS
Invariable stoichiometry of ribosomal proteins in mouse brain tissues with aging

Cell
Divergent Routes toward Wnt and R-spondin Niche Independence during Human Gastric Carcinogenesis

Scientific Reports
Evaluation of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing in human cultured cells

補足④

抗体メーカー（CST社、R&D社、Novus社）
のアプリケーションに
“SimpleWestern” 記載されてきてます



Bio-Techne antibodies are now Simple Western Certified



シンプルウェスタン用に認証された抗体

プロテインシンプルでは、R&D Systems社およびNovus Biologicals社とシンプルウェスタンで利用できる一次抗体の認定で提携しました。両社ウェブサイトでは抗体を検索するとき、Application検索キーに「Simple Western」をお選びください。すでに600以上の一次抗体がシンプルウェスタン用に認定され、さらに日々増加中です。

CST社は、2023年1月からWB用の抗体を、SimpleWesternでバリデートし始めました。今後、どんどん増えていくとの事。

Human/Mouse/Rat Phospho-ERK1(T202/Y204)/ERK2 (T185/Y187) Antibody AF1018
See All Sizes & Prices ▼
10 Citations
Clonality: Polyclonal
Host: Rabbit IgG
Applications: WB, Flow, Simple Western, IHC
compare (select up to 7 products from this page to compare)

Cell Signaling TECHNOLOGY
Search by keyword or product number

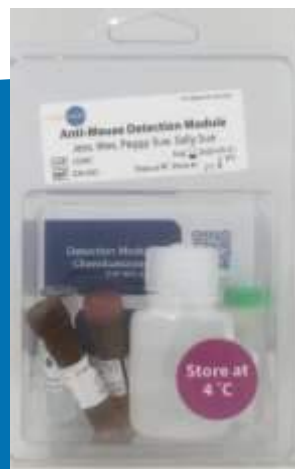
- Immunohistochemistry (Frozen) (2)
- IP (3335)
- Neutralizing Ab (2)
- Peptide ELISA (34)
- RNA Dot Blot (2)
- Simple Western™ (82)
- Western blot (7132)

2933	Bim (C34C5) Rabbit mAb	WB
8547	Btk (D3H5) Rabbit mAb	WB
3195	E-Cadherin (24E10) Rabbit mAb	WB
9664	Cleaved Caspase-3 (Asp175) (5A1E) Rabbit mAb	WB
9661	Cleaved Caspase-3 (Asp175) Antibody	WB
9662	Caspase-3 Antibody	WB
14220	Caspase-3 (D3R6Y) Rabbit mAb	WB

測定準備、消耗品について

Separation Module

Detection Module



マトリックス

- 12-230 kDa
- 2-40 kDa
- 66-440 kDa



ホスト

- Mouse
- Rabbit
- Goat
- Human

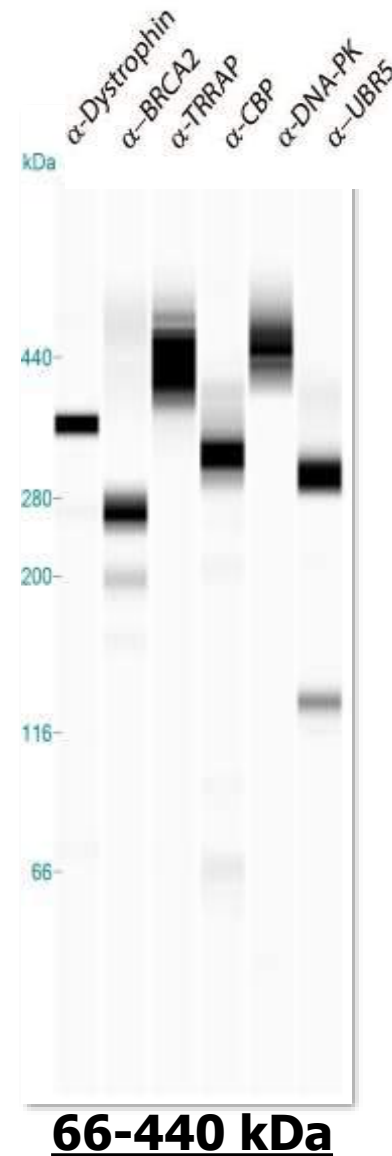
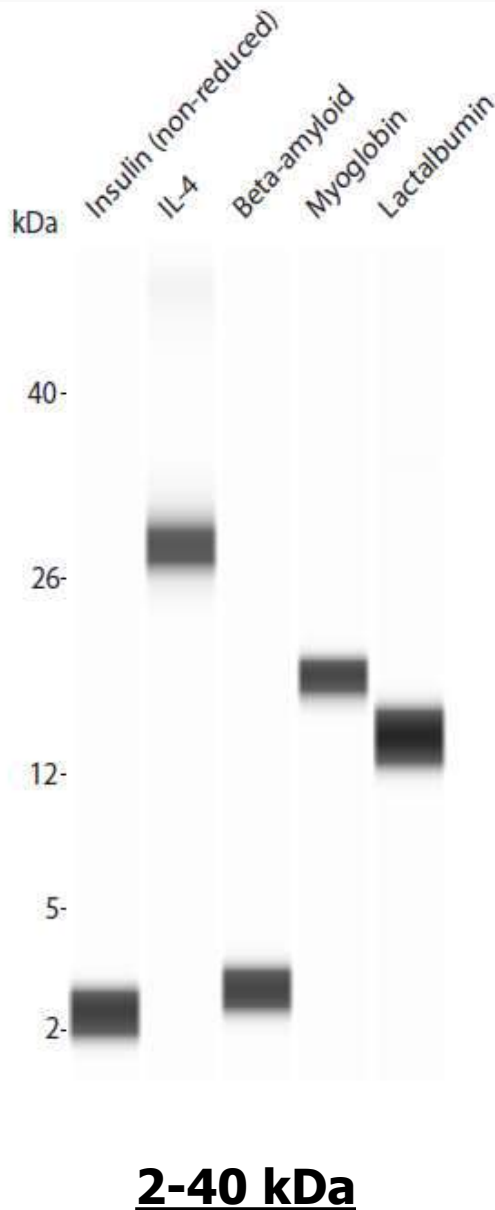
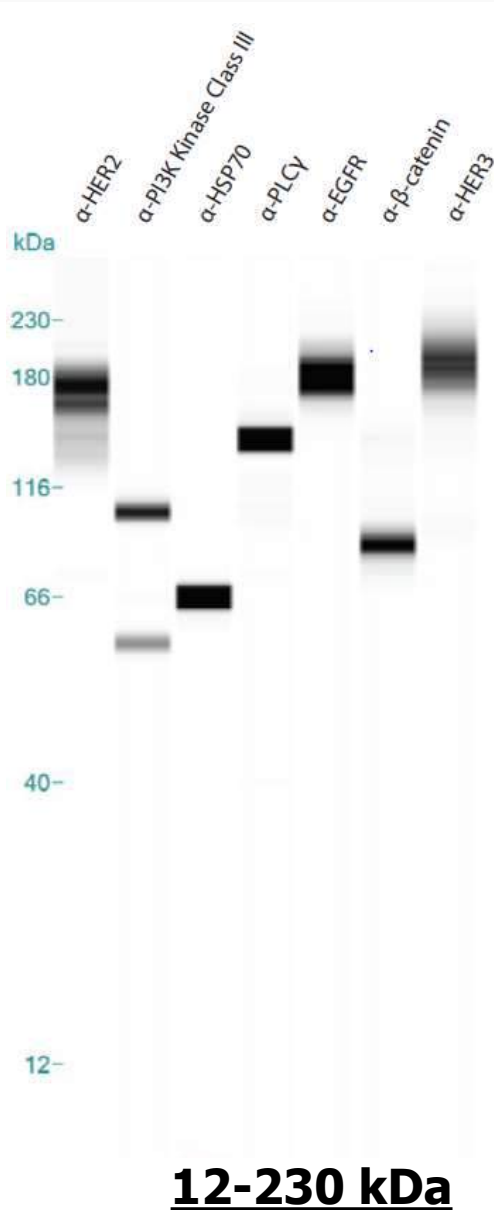
- Antibody Diluent II
: ブロッキング兼抗体希釈液
- Luminol-S & Peroxide
: 発光試薬
- Streptavidin-HRP (or NIR)
ラダー用二次抗体

標識

- 発光 (HRP)
- 蛍光 (NIR、IR)

その他は、サンプルライゼートと1次抗体をご準備頂くだけ！

プレート3種 : 2~440 kDa までカバー



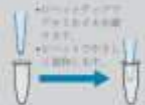
測定手順

1. 試薬の準備

A STANDARD PACKに含まれている試薬の準備



DTT (透明なチューブ)



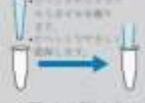
- 40 μ Lの脱イオン水を入れ、400 mM溶液を作成します。

Fluorescent 5 × Master Mix (ピンクのチューブ)



- 20 μ Lの10 × Sample Bufferを加えます。
- 20 μ Lの調整済みの400 mM DTT溶液を加えます。

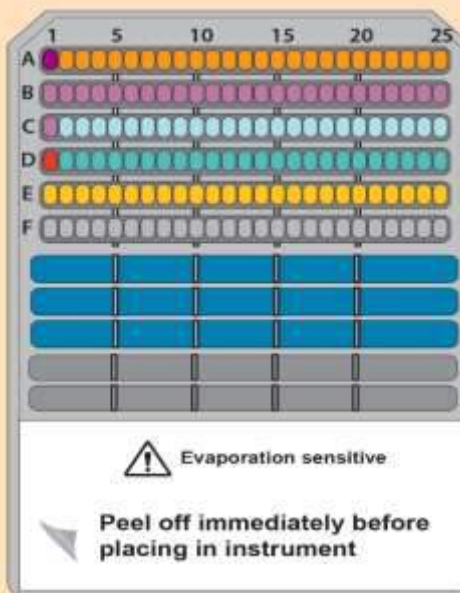
Biotinylated Ladder (ピンクのベレットの入った透明なチューブ)



- 20 μ Lの脱イオン水を加えます(濃性済)。

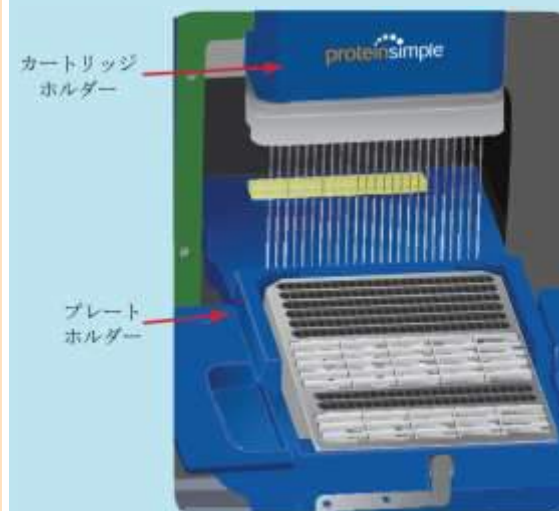
試薬、サンプル、抗体などの調製

2. プレートの準備



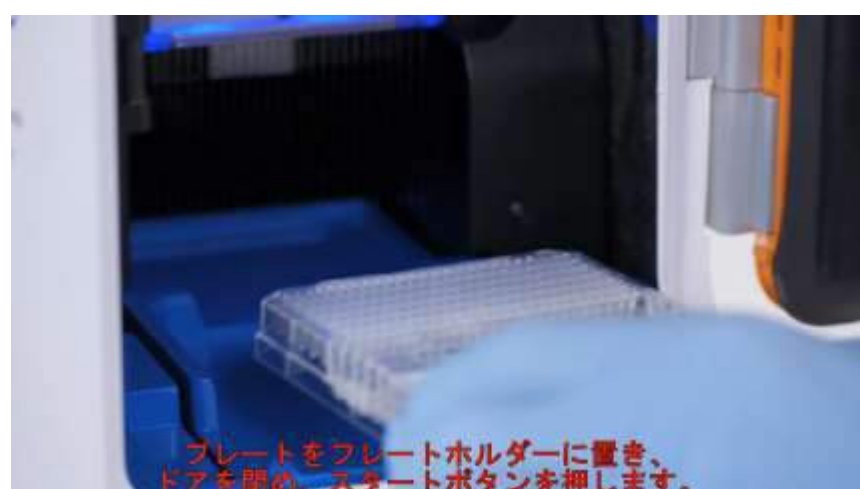
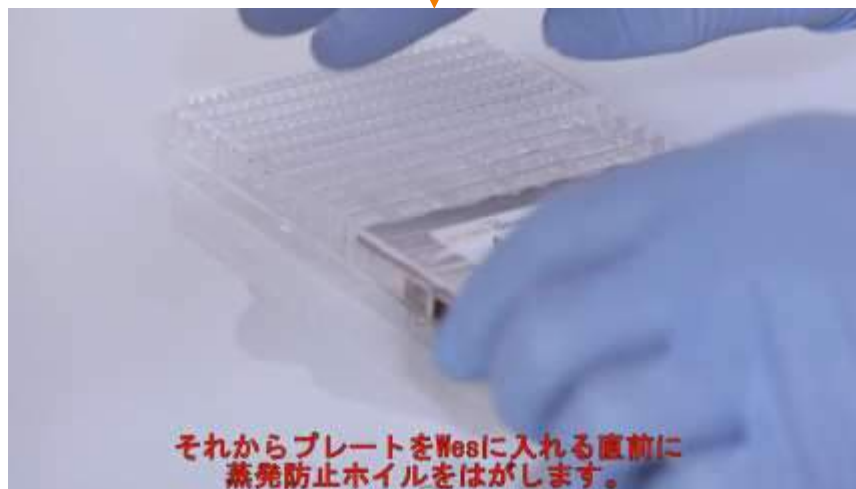
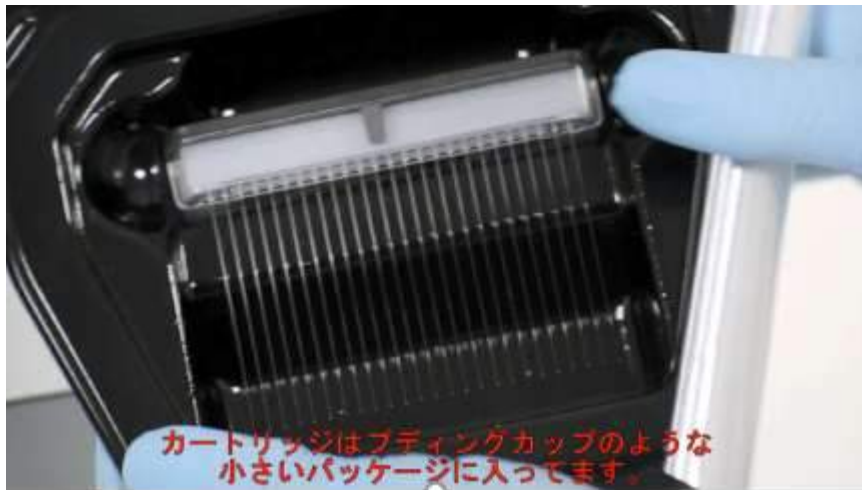
専用プレートへの分注

3. Jess、Wesの開始



電気泳動～解析まで全自動測定

カートリッジとプレートのセットアップ



注：手袋を使用ください

カートリッジとプレートのセットアップ



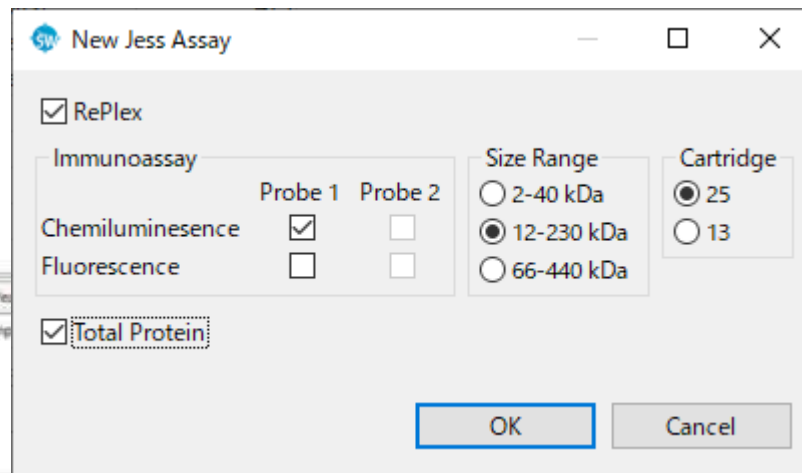
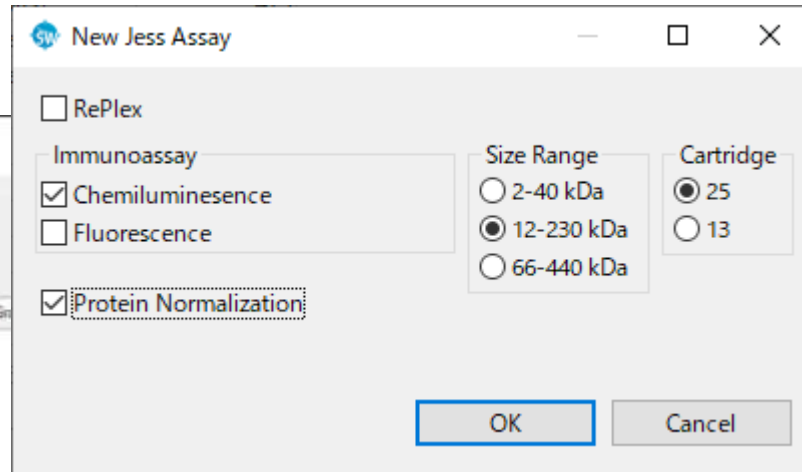
簡単セットアップ

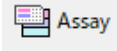

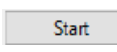
①



をダブルクリックします。

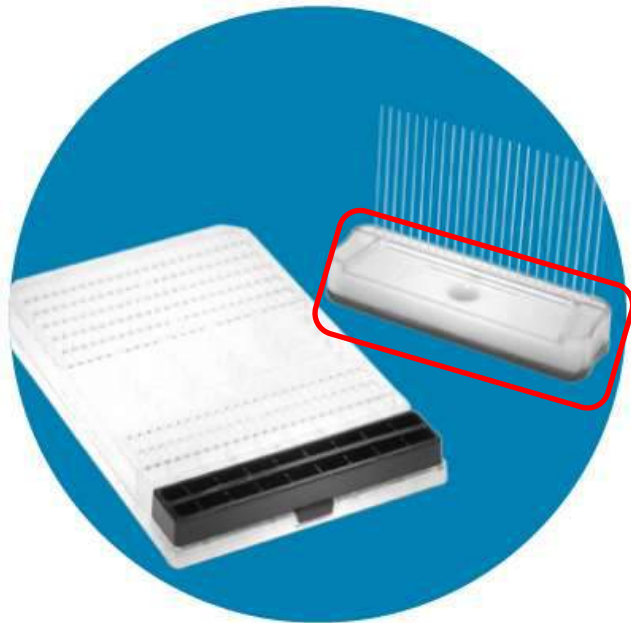
②



-  Assay をクリックします。
- File -> New Assay
- 適切なAssay type、size(分子量)範囲、キャピラリー数を選んでOKをクリック
-  をクリックします。
-  をクリックします。

メンテナンスについて

- ディスポーザブルのプレートとキャピラリーを使用
(機械内に溶液が入らない設計)
- すべての廃液はキャピラリーカートリッジに吸収



プレートとキャピラリーを
捨てるだけです!

Fall in Love with Westerns!



簡易価格表

全自動キャピラリーウエスタンシステム SimpleWestern		定価
シンプルタイプ(分子量) 発光、 蛍光 、RePlex	Jess(アカデミア)	¥13,380,000
シンプルタイプ(分子量) 発光、RePlex	Abby(アカデミア)	¥11,380,000

リースでの月額払いも対応

Q&A

プロテインシンプル ジャパン株式会社
中林 健司
大阪Office: 大阪市淀川区宮原4-2-10
PMOEX新大阪406
本社: 東京都中央区日本橋室町3-4-7-9F
TEL 03-5542-1436/FAX 03-5542-1437
Mobile: 080-4389-1530
kenji.nakabayashi@bio-techne.com