

# Immunoprecipitation with Dynabeads®

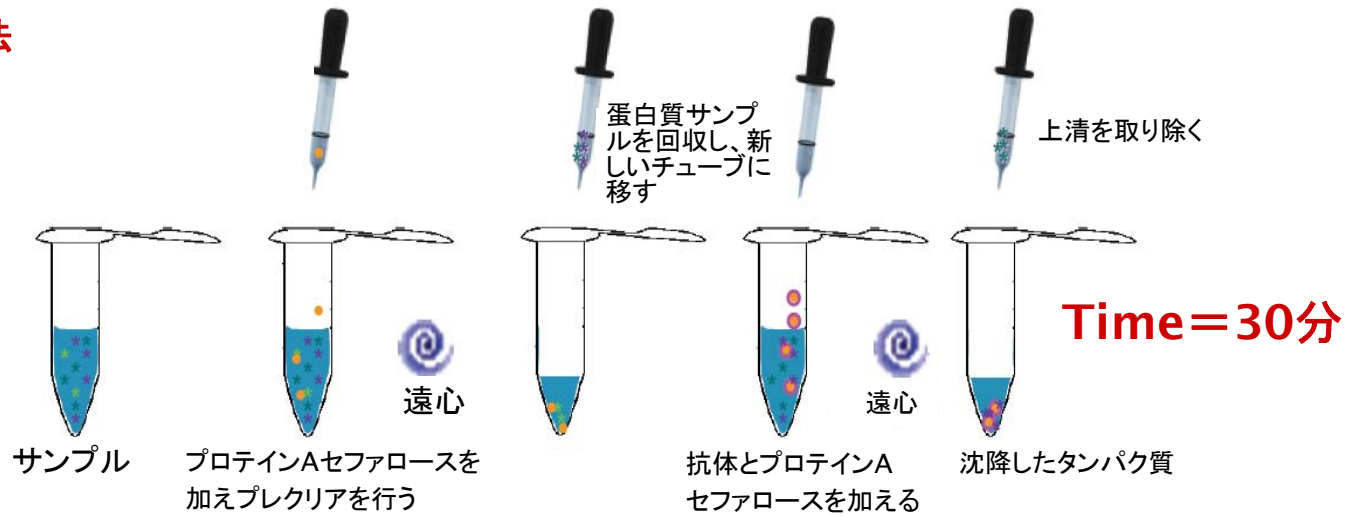
---



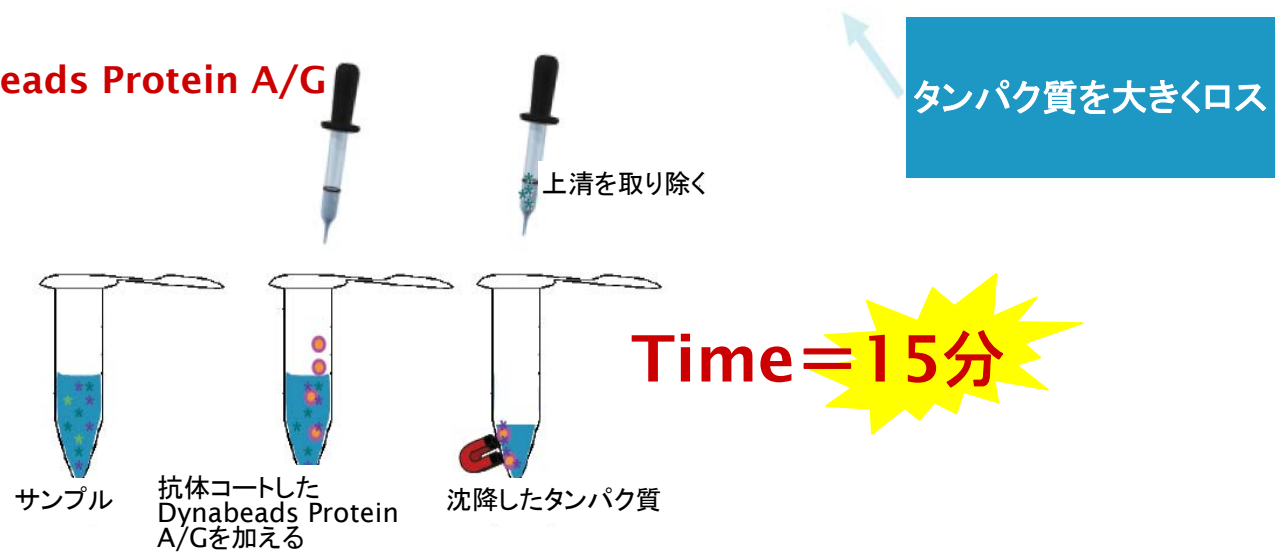
株式会社ベリタス  
2007/4

# 従来法との操作比較

## 従来法



## Dynabeads Protein A/G



# 従来法での問題点

---

- セファロースやアガロースへの非特異結合があるのでプレクリアが必要
  - サンプルのロスが多い
  - 長時間のハンドリングにより複合タンパク質が解離する
  - 分離したタンパク質を濃縮する必要がある
  - 自動化できない
  - 結果に再現性が得られない
-

# Dynabeadsの特長



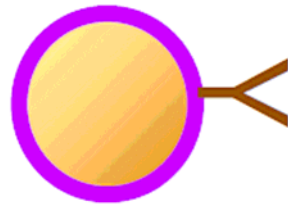
非常に均一で滑らかな表面

特長	利点
非特異結合が少ない	高純度
反応が早い	短いプロトコル
粒子径が均一で、 表面が滑らか	高い再現性
カラムや遠心分離不要	ターゲットタンパク質の 単離と濃縮が同時に可能
穏やかな条件	複合タンパク質をインタクトな状態 で回収
水溶液中での分散性に優れている	自動化が可能
磁石によるハンドリング	操作が簡単

# Dynabeads Protein A / Protein G

---

- Dynabeads® Protein A もしくは Dynabeads® Protein G にターゲット抗原に対する抗体を結合させる

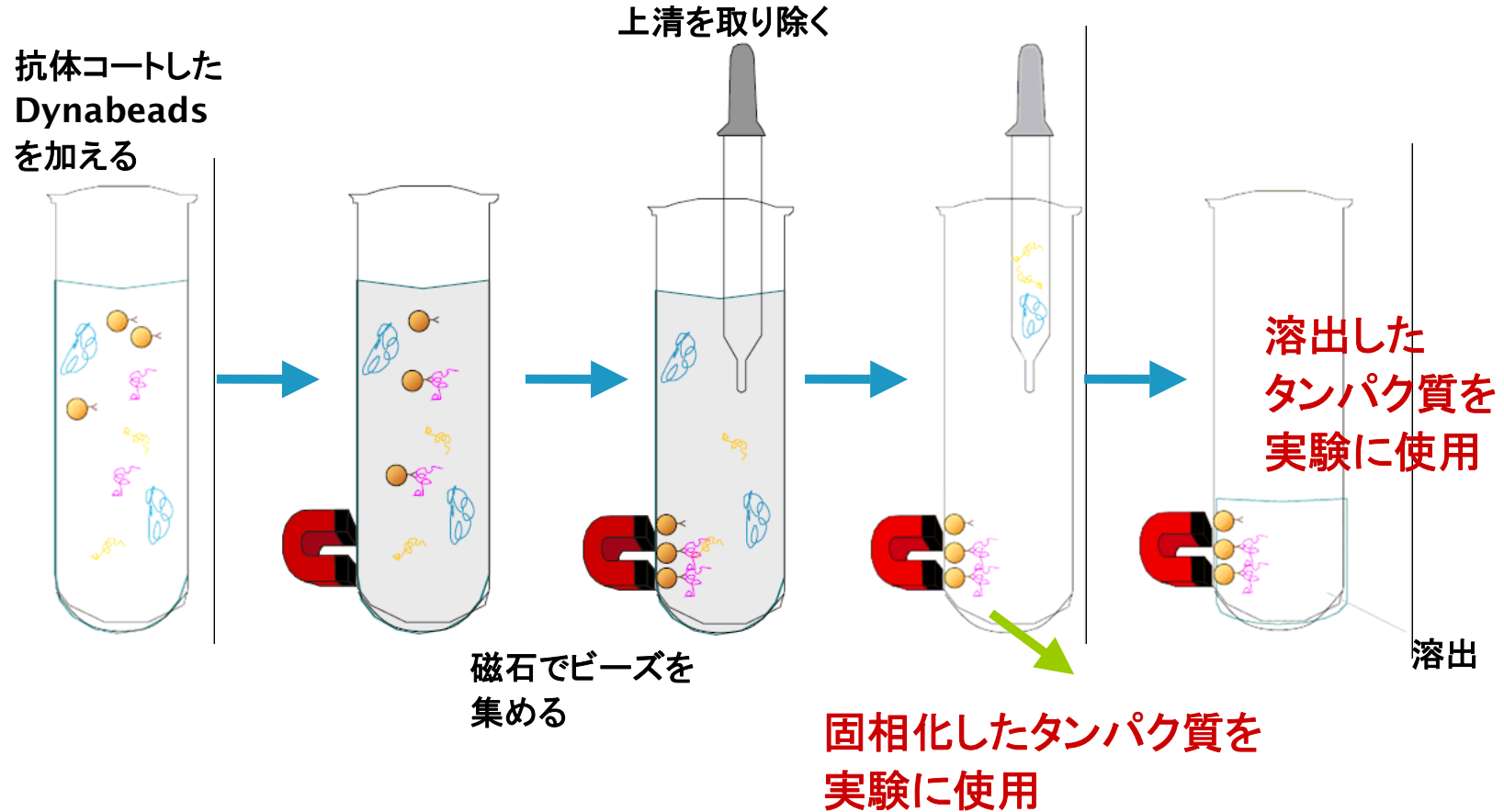


Dynabeads® Protein A  
or  
Dynabeads® Protein G

培養上清などからの抗体精製で  
あればlow pHのバッファーで  
溶出させることが可能です

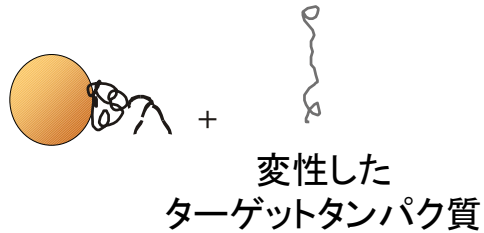
今までプロテインAもしくはプロテインGをお使いであれば担体が  
Dynabeadsに代わるだけです

# Dynabeadsによる免疫沈降



# 溶出方法の違いによるアプリケーション

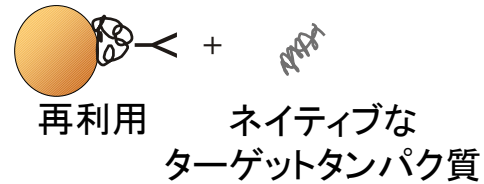
## 変性溶出



### Downstream application:

- SDS PAGE
- Western blotting
- Fluorography

## マイルドな溶出



### Downstream application:

- Protein characterization
- Immunization
- Enzyme studies
- aa-sequence determination
- Crystallization

## 溶出なし



### Downstream application:

- Immunoprecipitation
- Protein-protein interactions
- Enzyme studies
- Bioassays
- Immunoassays

# 免疫沈降用Dynabeadsの選択ガイド

	Dynabeads® Protein A/G	Dynabeads® Sheep anti- Mouse/Rabbit IgG	Dynabeads® Tosylactivated	Dynabeads® Carboxylic Acid / Amine / Epoxy	Dynabeads® Streptavidin
Ab from different species	human, mouse, rat, bovine, dog, goat, guinea pig, horse, monkey, porcine, rabbit, sheep	only mouse / only rabbit	any Ab	any Ab	any Ab biotinylated
Ab orientation on the beads	Fc binding	random binding (mostly Fc)	Fc binding	random binding	random binding
Ab binding capacity (pr ml. beads)	high (250 µg human IgG)	medium (6-70 µg IgG)	medium (10-40 µg/ml)	medium	medium (5-20 µg biotinylated IgG)
Non specific binding	low	low	low	low	low
Pure Ab needed for coupling	no	no	yes	yes	no
Cross binding needed	yes (if downstream elution)	yes (if downstream elution)	no	no	Not applicable
Coupling time	10 min	minimum 30 min / minimum 2 hours	minimum 16 hours	1 hour/ 2hours / minimum 16 hours	minimum 10 minutes

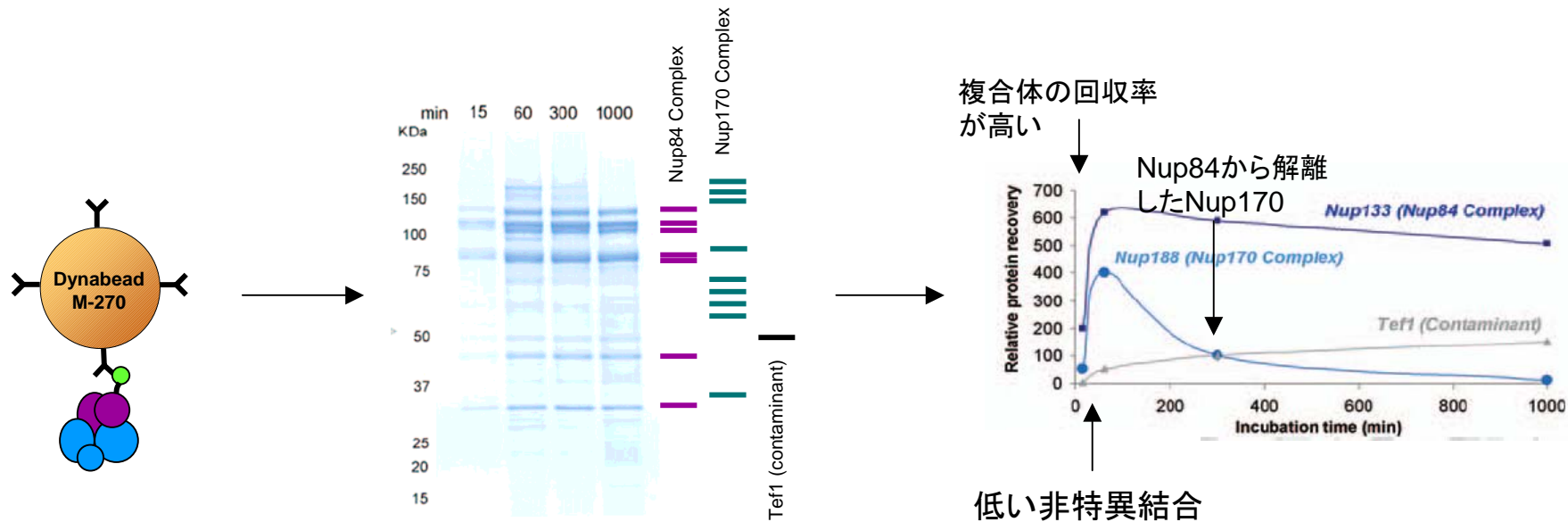


# Dynabeads使用例からのアドバンテージ

1. 穏やかで迅速な方法 (5 - 60 min)
  - オリジナルに近いタンパク質複合体を保存
  - 低い非特異結合
2. Efficiency is routinely >90 %
3. Recovery >95 %

**" Dynabeads are absolutely the best technology we have found so far for pulling out large complexes."**

*Dr. Michael P. Rout, Rockefeller University*



複合体の回収率  
が高い

Nup84から解離  
したNup170

低い非特異結合

(Adapted from Christea et al. 2005)

**Dynabeadsを使用することで違いがはっきりします！！**