

# ヒスチジン標識タンパク質の精製 Dynabeads® TALON

---



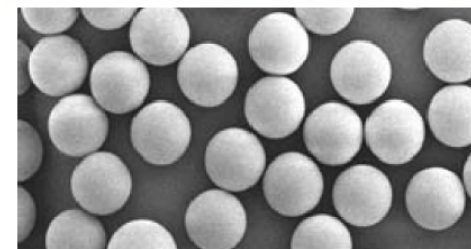
株式会社ベリタス  
2007/4

# 1. 従来法(カラム)での問題点

---

- サンプルのロスが多い
- 純度が悪い
- 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

## 2. Dynabeadsの特長



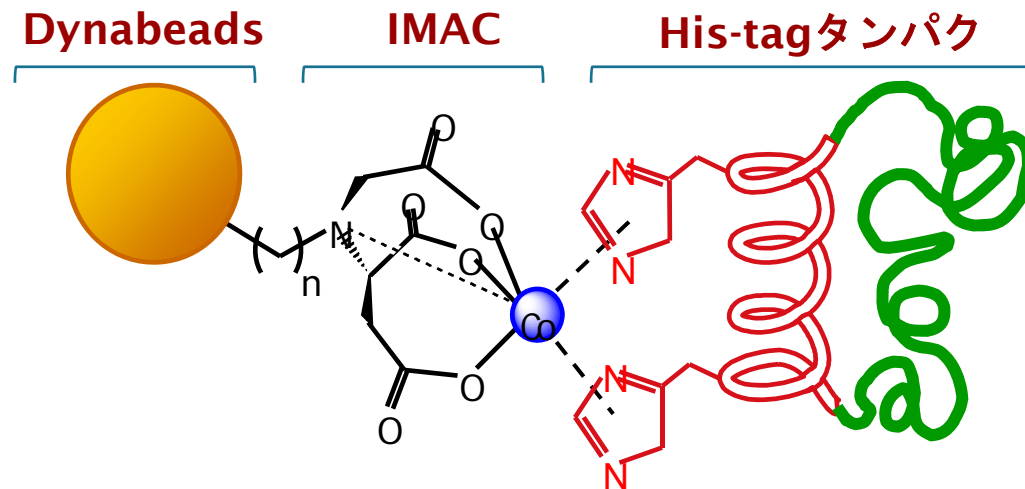
非常に均一で滑らかな表面

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

# 3. Dynabeads TALONとは

---

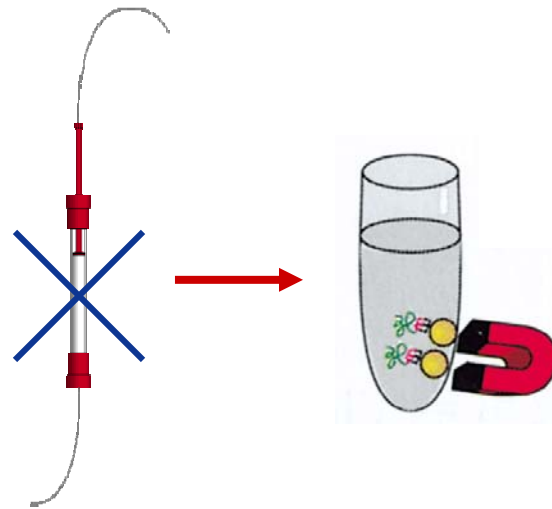
- His-tagタンパク質の精製
- 1ミクロンのDynabeadsに高い特異性を持ったBD TALONを結合
- コバルトを中心としたIMAC Technology
- 中心金属のコバルトによりニッケルよりも特異的に精製
- 磁気ビーズなので自動化が容易でスクリーニングにも最適



## 4. Dynabeads TALONのメリット

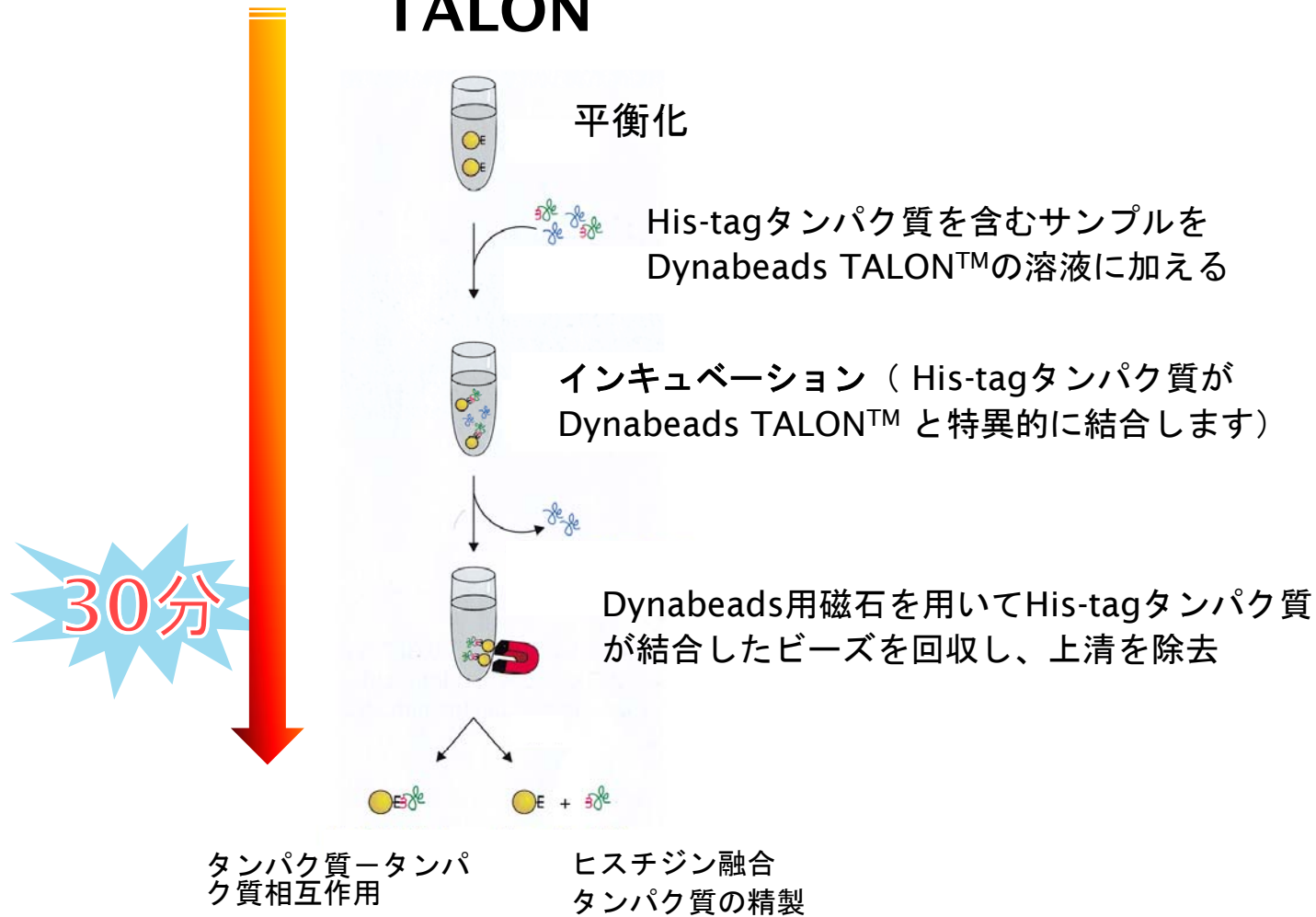
---

- **小スケール**での精製、濃縮が容易
- 遠心機、カラム**不要**
- カラム準備が不要なので**時間も短縮**
- **迅速で温和**なので不安定なタンパク質に対しても有効
- 溶出フラクションの確認が**不要**

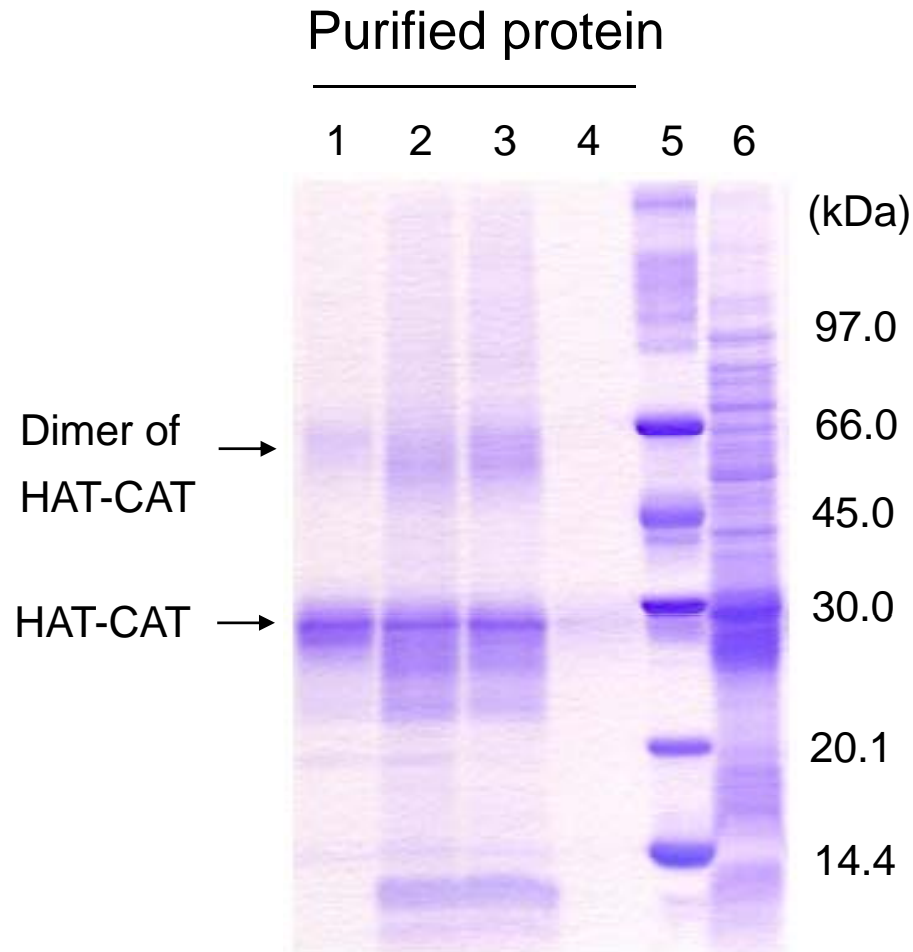


# 5. 使用方法概要

## TALON



## 6. TALONデータ比較



Yield: 5 – 10  $\mu\text{g}/\text{mg}$  beads

他社製品に比べ夾雑タンパク質のバンドが少なく、高純度のサンプルが得られます

1. Dynbeads® Talon
2. Competitor 1
3. Competitor 2
4. Competitor 3
5. LMW standard (14-97 kDa)
6. Cell lysate

## 7. 使用目的例

---

- **小容量でのタンパク質精製**
  - Dynabeads® TALON™ はタンパク質-タンパク質相互作用やタンパク質複合体の“pull down”に最適
- **Mass Spectrometry (MS) analysis前のタンパク質サンプルの調整**
- **ハイスループットスクリーニング(HTS)**
  - ターゲット分子に対するアフィニティーと特異性を持った分子の大規模スクリーニング等



## 8. Dynabeads® TALON™ FAQ & Troubleshooting

### 試薬の適合性

Compatible reagents	accepted concentration	Incompatible reagents
β-Mercaptoethanol	10 mM (with caution)	DTT (dithiothreitol)
CHAPS	1% (with caution)	DTE (dithioerythridol)
Ethanol	30% (only for storage)	EDTA (ethylenediaminetetracetic acid)
HEPES	50 mM	EGTA (ethylene glycol-bis(β-aminoethyl ether))
Glycerol	20%	
Guanidinium-HCl	6 M	
Imidazole	200 mM at pH 7-8 for elution	
KCl	500 mM	
MOPS	50 mM	
NaCl	1.0 M	
NP- 40	1%	
SDS	1% (with caution)	
Tris	50 mM	
Urea	8M	

## 9. Dynabeads® TALON™ FAQ & Troubleshooting

---

### 非特異結合が多い場合

- ・ Imidazoleを加える  
binding/lysis bufferにimidazoleを加える。Imidazoleはwashing bufferに加えることもできる。
- ・ pHを低くする
- ・ pHをわずかに低くし、imidazole を洗浄ステップで加える。
- ・ ビーズの使用量を減らす
- ・ binding/washing bufferに添加物を使用する
  - β-Mercaptoetanol
  - Non-ionic detergents (Tween もしくは NP-40など)
  - Glycerol (疎水的相互作用を防ぐ)