

タイトル: Hisタグ融合タンパク質精製レジンの比較(TALON®とNi-NTA)

カテゴリ: タンパク質精製・解析・検出

キーワード: TALON®, His-tag、ヒスチジンタグ、Hisタグ、タンパク質精製

データソース: [Clontech Laboratories, Inc. BIOVIEW No.52](#)

方法:

TALON® Metal Affinity Resin (製品コード [635501](#))

Ni-NTA ResinとTALON® Resinを用いて、非変性条件下および変性条件下におけるSlyD*の非特異的吸着を比較した。

*C末端にヒスチジンに富む金属結合ドメインを有する大腸菌のプロリル・イソメラーゼ

非変性条件下および変性条件下で、Ni-NTA樹脂とTALON® Resinを用いて、大腸菌破砕液より6 × His-Proteinの精製を行った。

精製は、それぞれの標準プロトコールに準じて行い、CBB染色により解析した。

【操作の概略】

カラムの平衡化
(10倍量の平衡化バッファー／洗浄バッファー)
↓
サンプルの添加
↓
カラムの洗浄
(10倍量の平衡化バッファー／洗浄バッファー)
↓
サンプルの溶出(5倍量の溶出バッファー)
↓
高純度の目的タンパク質

結果:

Ni-NTA Resinでは、SlyDは非特異的に吸着されてしまい、不要なタンパク質の混入の原因となる。
TALON® Resinでは、変性条件、非変性条件にかかわらずSlyDの非特異的な吸着は見られなかった(図2)。
不要なタンパク質が混入しないため、高純度の精製が期待できる。

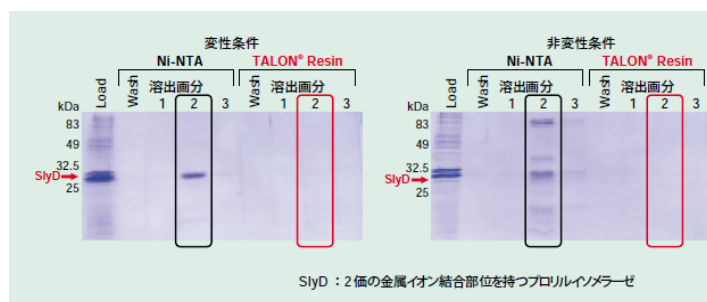


図2 BL21 (DE3) pLysS 株由来 SlyD タンパク質 (27 kDa) の非特異的吸着の比較

TALON® Resinは、Ni-NTA Resinと比較して、特に変性条件下で高収量、高純度を示した(図3)。

【非変性条件下】

平衡化バッファー／洗浄バッファー*1: 50 mMリン酸ナトリウム、300 mM NaCl、pH7.0

溶出バッファー: 50 mMリン酸ナトリウム、300 mM NaCl、150 mMイミダゾール、pH7.0

【変性条件下】

平衡化バッファー／洗浄バッファー: 50 mMリン酸ナトリウム、300 mM NaCl、6 M Guanidinium, pH7.0

溶出バッファー*2: 45 mMリン酸ナトリウム、270 mM NaCl、5.4 M Guanidinium、150 mMイミダゾール、pH7.0

* 1: TALON® ResinはニッケルベースのNi-NTA樹脂より穏やかな条件で溶出可能。したがって、非特異的吸着を防ぐためあらかじめイミダゾールを添加する場合でも、5 mM程度を推奨する。

* 2: 平衡化バッファーと1.5 Mイミダゾール pH7.0を9:1で混合すると簡単に作製することが可能。

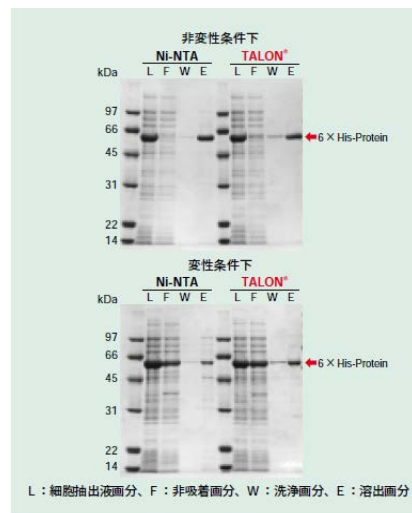


図3 非変性および変性条件下での比較

備考: