Hisタグ融合タンパク質精製ガイド 2019-2020

- 簡単、迅速な精製が可能なニッケルベースのスピンカラムタイプ
  Capturem™ His-Tagged Purificationシリーズ

- 高収量を実現するニッケルレジンタイプ
  His60 Ni Superflow Resin

- 高純度精製が可能なコバルトレジンタイプ
  TALON® Resin

あなたは簡便性重視？ それとも純度重視？
研究目的に合わせ、最適な製品をお選びください！

that's GOOD science!™

Clontech TaKaRa cellartis

Hisタグ融合タンパク質精製の概要

Hisタグ融合タンパク質精製とは？

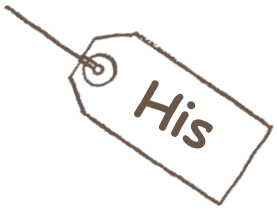
ヒスチジンタグ（Hisタグ）を持つ組換えタンパク質は、固定化金属アフィニティークロマトグラフィー（IMAC）担体との親和性を利用して精製できることが知られています。

タカラバイオでは、Hisタグ融合タンパク質精製のための製品を多数取り揃えています。
実験の時間を大幅に短縮できる**Capturem™**や、コバルトを用いた**TALON®**など様々です。
研究の目的や下流のアプリケーションなどによって、適切な製品を選択していただけます。

■ “Hisタグ”のメリット

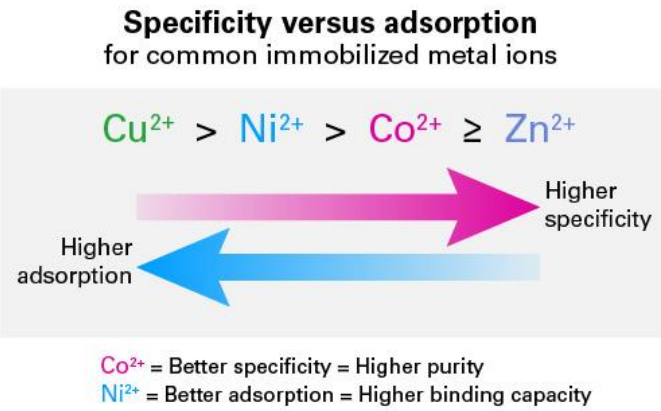
- サイズが小さい
- 野生型タンパク質の機能や構造を変える可能性が低い
- クローン化が簡単
- N末端またはC末端に組み込まれている場合に有効
- 非変性／変性タンパク質のどちらの精製にも使用可能

※75%以上の研究者が、タンパク質精製にHisタグを使用しています。



■ 金属イオンの違い

ニッケルとコバルトをベースにしたレジンでは、吸着性に対して特異性のバランスが異なります。
ニッケルはHisタグ精製に広く用いられており、高い結合容量を持ちます。一方、コバルトはニッケルよりもHisタグ融合タンパク質に対して高い特異性を示すため、より高純度に精製することができます。



	特 長	アプリケーション
ニッケル	・高収量 ・非変性または変性条件下で機能 ・Ni^{2+}イオンの低リーク	・ラベリング ・抗原として ・動物への投与
コバルト	・高純度 ・Hisタグタンパク質に対する高い特異性 ・不純物の共精製の減少	・結晶構造解析 ・機能アッセイ ・構造研究

■ 各シリーズの比較

	金属イオン	純度	収量	結合容量（mg protein/ml matrix）	時間	使いやすさ
Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit	ニッケル	★★★★	0.1 mg/mini spin column	100 mg/ml	5 min	★★★★★
His60 Ni レジン	ニッケル	★★★★	60 mg/ml resin	60 mg/ml	60～120 min	★★★
TALON® レジン	コバルト	★★★★★	20 mg/ml resin	20 mg/ml	60～120 min	★★★
Magnetic beads	ニッケル／コバルト	★★★★★	15 mg/ml resin	15 mg/ml	60 min	★★★★

研究の目的や下流のアプリケーションに合わせてお選びいただけます！

最短5分！迅速・簡単な精製が可能なスピンカラムタイプ

Capturem™ His-Tagged Purification

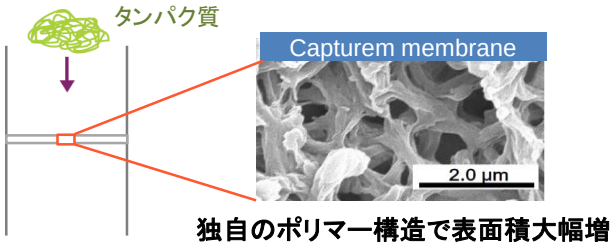
時間、手間をかけたくない方におススメ！
室温下での簡単な操作性も魅力的。高濃度溶出可能です。

◆ Capturem™の特長

- **短時間かつ簡便な操作で高純度精製が可能**
  培養液からclear lysateを調製し、スピンカラムにロードして完了。
  短時間操作で品質低下を防ぎ、しかも高収率、高純度の精製が可能です。
- **操作は室温下。哺乳類細胞やバクテリアサンプルに対応**
  革新的なナイロン膜がカラムに格納されており、室温下で迅速な操作が可能です。
- **様々な添加剤存在下でも一貫した高性能を発揮**
  変性剤（8M Urea、6M Guanidine-HCl）や添加剤（β-ME、EDTA、DTT、グリセロール、TCEPなど）の存在下、さまざまなバッファー等、幅広い条件下で一貫して高性能を示します。
- **Bed volumeが小さく、高濃度溶出が可能**

Capturem™と従来のレジンカラムとの比較

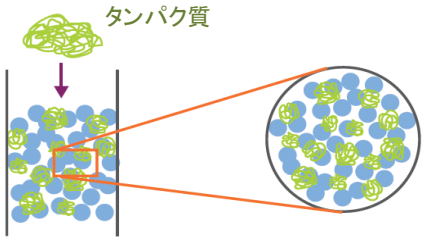
＜Capturem™＞



独自のポリマー構造で表面積大幅増

- ベッドボリューム：小さい
- カラム内でのタンパク質の拡散：速やか
- 分離速度：速やか

＜従来のレジンカラム＞

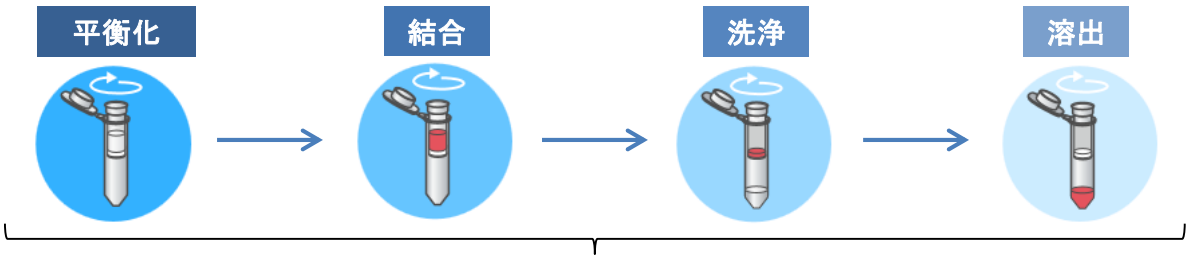


- ベッドボリューム：大きい
- カラム内でのタンパク質の拡散：緩やか
- 分離速度：緩やか

大きな膜表面積で高容量を実現しています。
精製に長時間を要するレジンカラムに比べ、新テクノロジーの高容量膜細孔は迅速に滴下し、短時間での精製が可能です。低い圧力で滴下できるため、タンパク質の品質低下を招きません。 また、Bed volumeが小さく、洗浄バッファーの残存がない高純度な精製が可能です。

◆ Capturem™ His-Tagged Purificationの基本フロー

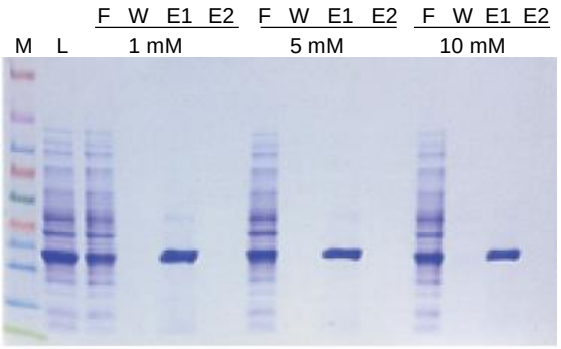
サンプル ： 培養液からLysis Bufferを用いてクリアな溶解液を調製し、Miniと96well plateならそのままカラムにロード、MaxiならMaxiprep Filterに通してカラムにロードする。



精製時間 ： Miniなら5分、Maxiおよび96 well plateなら15分以内

◆ 添加剤存在下でも高純度精製が可能

● Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep KitにおけるEDTAの影響

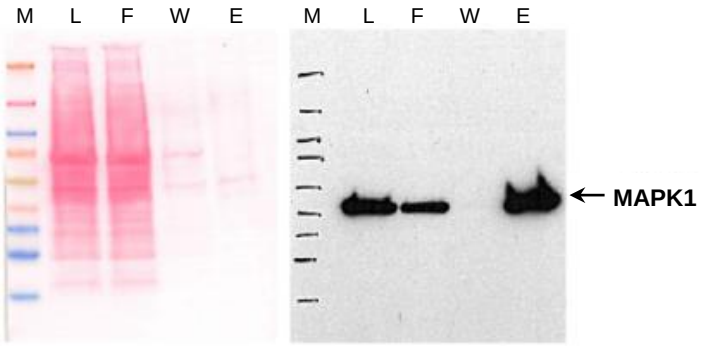


1 mM、5 mMまたは10 mMのEDTA存在下で、6×Hisタグ融合GFPuvタンパク質を精製した。サンプル、平衡化バッファー、洗浄バッファー、溶出バッファーにそれぞれEDTAを加えて精製操作を行い、300 µlの溶出バッファーで2回溶出した。

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

M：Marker　L：Lysate　F：Flow through　E1：Eluate 1　E2：Eluate 2

◆ 哺乳類細胞で発現させたHisタグ融合タンパク質の精製



M：Marker　L：Lysate　F：Flow through　W：Wash　E：Eluate

293T細胞に、6×Hisタグを付加したMAPK1をコードするプラスミドをトランスフェクションし、Capturem His-Tagged Purification Miniprep Kitを用いて発現タンパク質を精製した。平衡化したカラムに細胞ライセートを通し、洗浄バッファー400 µlで洗浄後、溶出バッファー300 µlで溶出した。各フラクションを4～20%ポリアクリルアミドゲルで泳動後、ニトロセルロースメンブレンにブロッティングし、ポンソーS染色およびウェスタンブロッティングを行った。ポンソー染色（左）では、各フラクションの全てのバンドが染色される。
ウェスタンブロッティング（右）には、MAPK1に特異的な抗体を用いた。

◆ Bufferへの添加が可能な試薬一覧

試薬	濃度
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

試薬	濃度
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%

製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit	20回	635710	¥40,000
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Kit	6回	635713	¥53,000
Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Columns	50本	635719	¥220,000
Capturem™ His-Tagged Purification Large Volume	4回	635724	¥81,000
Capturem™ His-Tagged Purification 96-Well Plate	96 well plate×1	635714	¥75,000
Capturem™ His-Tagged Purification 24-Well Plate	24 well plate×1	635730	¥76,000

★ Miniprep Kitのサンプル品（2回用）を無料配布中！ サンプルのお申込みは弊社ウェブサイトをご覧ください。

「Capturem」シリーズには抗体精製、タンパク質消化、エキソソーム精製などに対応した製品もあります。
詳細は弊社ウェブサイトをご覧ください！

高収量を実現するニッケルレジンタイプ

His60 Ni Superflow Resin

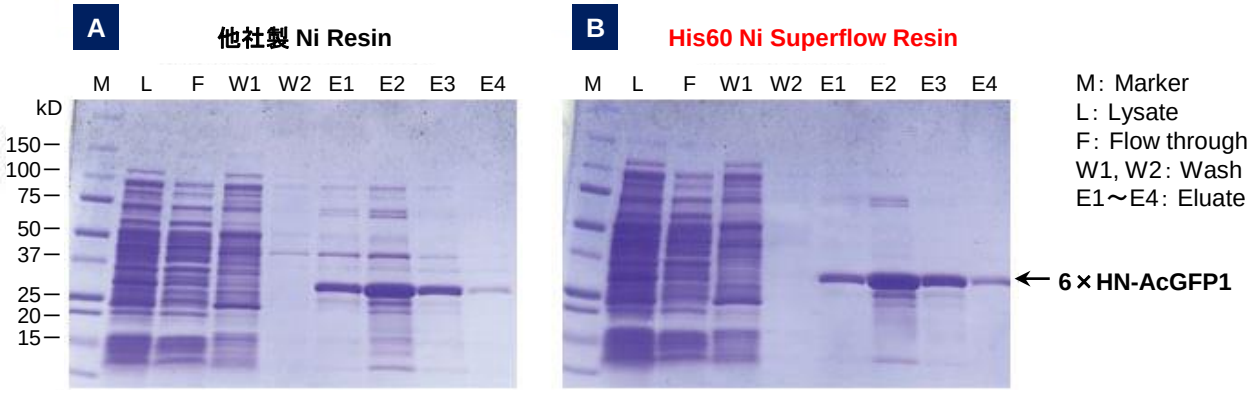
収量とコスパ重視の方におススメ！
充填タイプもあるので、実験の手間も短縮できます。

◆ His60 Ni Superflow Resinの特長

- **市販のニッケルレジン中、最高の結合容量**
  ～60 mg Hisタグ融合タンパク質／ml レジン
- **中圧、高速クロマト装置に対応可能なSuperflowタイプ**
- **変性、非変性条件で使用可能**
- **樹脂の再使用、再生も可能**

結合容量	～60 mg Hisタグタンパク質／ml レジン （6×HNタグ融合AcGFP1タンパク質の場合）
レジンタイプ	Superflow
レジン構造	6%アガロースクロスリンクビーズ
ビーズサイズ	60～160 μm
製品形態	・各種容量の樹脂：10 ml～250 ml×4 50%スラリー、20%エタノール中 （Niイオン結合済み） ・充填済みカラム／カートリッジ

◆ His60 Ni Superflow Resinを用いた高収量精製



pET発現システムを用いて、6×HNタグ融合AcGFP1タンパク質の発現を行った。他社同等製品（パネルA）およびHis60 Ni Superflow Resin（パネルB）をそれぞれの推奨条件で用いて、6×HNタグ融合AcGFPタンパク質を含む等量のサンプルを精製した。

（TB USA社取得データ）

His60 Ni Superflow Resinでは、他社同等品よりも高純度、高収量なタンパク質が得られました！

製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
ヒスチジンタグ精製用レジン（加圧可）・・・高速クロマト対応			
His60 Ni Superflow Resin ※	10 ml	635659	¥24,000
	25 ml	635660	¥50,000
プレパックタイプのFPLC精製カートリッジ			
His60 Ni Superflow Cartridges	1 ml×5	635675	¥33,000
	5 ml	635680	¥24,000
	5 ml×5	635679	¥96,000
His60 Ni Superflow Cartridge Purification Kit	1 ml×5	635674	¥69,000
	5 ml×5	635678	¥124,000
His60 Ni Buffer Set	20回	635665	¥44,000
プレパックタイプの自然落下式カラム			
His60 Ni Gravity Columns	1 ml×5	635657	¥18,000
His60 Ni Gravity Column Purification Kit	1 Kit	635658	¥50,000

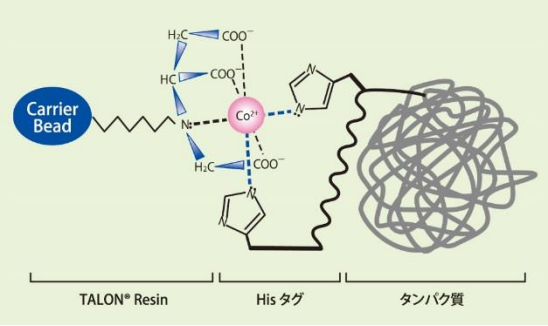
※ **お得な100 ml、250 ml、500 ml、1,000 ml包装もご用意しています。**

高純度精製が可能なコバルトレジンタイプ
TALON® Resin

目的のタンパク質のみを高純度に精製します。
特に構造解析をする方におススメ！

◆ TALON® Resinの特長

- **ヒスチジン繰り返し配列に特異性が高いCo^{2+}を使用**
  非特異的吸着が極めて少ない高純度精製が可能です。
- **多様な精製条件下で使用可能**
  6Mグアニジン変性条件でも収量を維持します。
- **4配位結合キレート剤でCo^{2+}を強固に固定**
  金属イオンの脱落はありません。



◆ もっと詳しく・・・

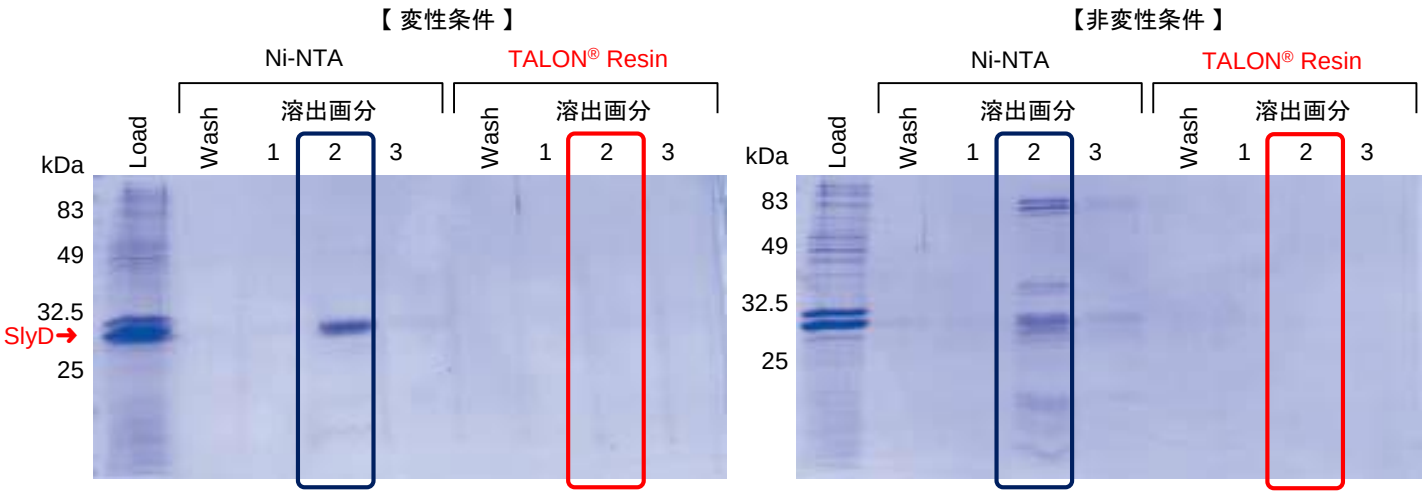
TALON® Resinは、Hisタグ融合タンパク質のIMA（固定化金属アフィニティクロマトグラフィー）精製用高性能樹脂です。TALON® Resinの反応中心にはCo^{2+}が存在し、三次元空間的に適切に配置した隣接ヒスチジンのみがこの反応中心でCo^{2+}に結合するため、Hisタグに対して高い選択性・親和性を示します。IMACに一般的に用いられているNi^{2+}ベースの樹脂ではこの空間的な位置要求性があまり厳密ではなく、タグ部分以外のヒスチジンにも結合する場合があります。一方、TALON® Resinは構造が均一なキレートリガンドを採用しているため、金属イオン（Co^{2+}）を常に4つのキレート部位で安定保持することができ、金属イオンの脱落がほとんど起こらず、目的のタグ融合タンパク質の収量低下を招きません。
このようにTALON® Resinは、Hisタグ融合タンパク質を高純度かつ安定した収率で精製できる優れた特長を持つIMAC用担体です。

◆ TALON Resinの優れた吸着特異性

TALON® Resinでは、非特異的吸着は起こりません！
Hisタグをもたないタンパク質がNi^{2+}キレート樹脂に非特異的に吸着するケースはしばしば見られますが、TALON® Resinではタグ融合タンパク質以外の吸着はほとんど起こりません。

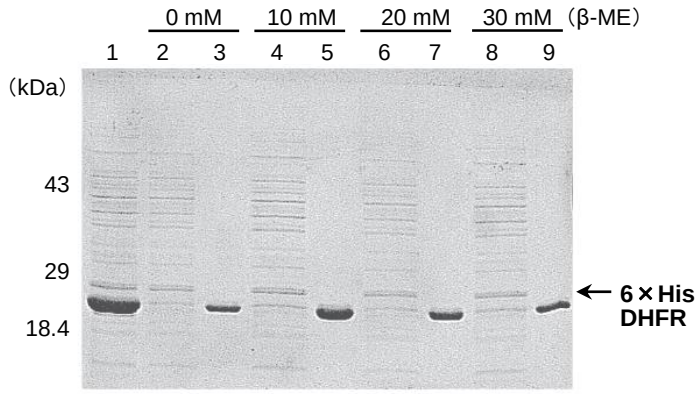
● BL21（DE3）pLysS株由来SlyDタンパク質（27 kDa）を用いて比較した例

※SlyD：2価の金属イオン結合部位をもつプロリルイソメラーゼ



Ni-NTA Resinでは SlyDは非特異的に吸着されてしまっており、不要なタンパク質の混入の原因となります。一方、TALON® Resinでは、変性条件、非変性条件にかかわらず非特異的な吸着は見られません。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ます。

● TALON® Resinは目的タンパク質のみをキャッチ！

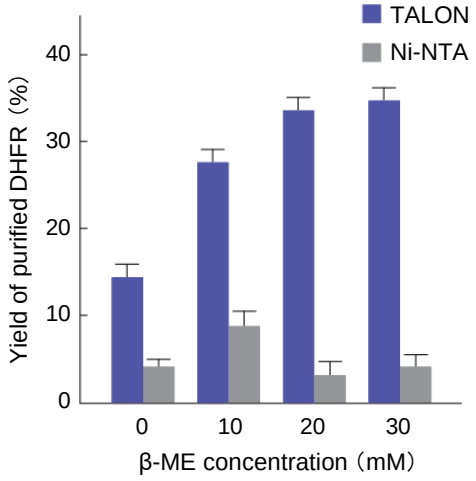


N末端6×Hisタグ融合マウスDHFR（19.5 kDa）を発現させた大腸菌ライセート2 mlを、TALON Resinを用いて、種々の濃度のβ-ME存在下で自然落下法にて精製した。

偶数レーン：非吸着画分（20 µl）
奇数レーン：溶出画分（5 µl）

目的タンパク質のみを高純度に精製！

● TALON® Resinは非変性条件下でもラクラク吸着



非変性条件（β-ME存在下）で細胞抽出液から精製した組換え6×His-DHFRの収量を比較した。

還元条件下でも高い回収率を示します。

製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
ヒスチジンタグ精製用レジン			
TALON® Metal Affinity Resin ※	10 ml	635501	¥28,000
	25 ml	635502	¥62,000
TALON® 2 ml Disposable Gravity Column	50本	635606	¥19,000
ヒスチジンタグ精製用レジン（加圧可）・・・ 高速クロマト対応			
TALON® Superflow Metal Affinity Resin ※	25 ml	635506	¥77,000
プレパックタイプのFPLC精製カートリッジ			
HisTALON™ Superflow Cartridges	1 ml×5	635650	¥50,000
	5 ml	635683	¥28,000
	5 ml×5	635682	¥123,000
HisTALON™ Superflow Cartridge Purification Kit	1 ml×5	635649	¥81,000
	5 ml×5	635681	¥147,000
HisTALON™ Buffer Set	20回	635651	¥44,000
プレパックタイプの自然落下式カラム			
HisTALON™ Gravity Column Purification Kit	1 Kit	635654	¥55,000
HisTALON™ Gravity Columns	1 ml×5	635655	¥21,000
ヒスチジンタグ精製用レジン（細胞用）・・・ 細胞粗抽出液からの精製に最適			
TALON® CellThru	10 ml	635509	¥34,000
	100 ml	635510	¥236,000
CellThru 10-ml Disposable Columns	20本	635513	¥20,000
レジン充填ずみスピンカラムタイプ ・・・ 小スケールで簡便に			
TALON® Spin Columns	10本	635601	¥24,000
	25本	635602	¥51,000
	50本	635603	¥93,000

※ お得な100 ml、250 ml、500 ml、1,000 ml包装もご用意しています。

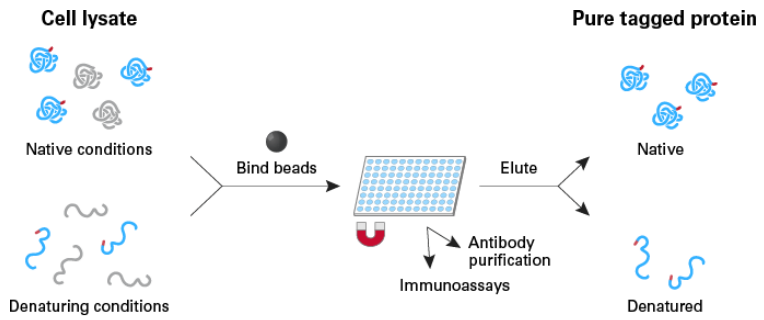
磁気ビーズ型レジン

TALON®／His60 Ni Magnetic Beads

コバルトとニッケルをご用意。
ハイスループットのマイクロスケール精製にもおススメ！

◆ Magnetic Beadsの特長

- 素早く簡単に磁気ビーズを分離
- 少量のサンプルや粗細胞溶解物でも効果的な発現スクリーニングが可能
- ビーズペレットの磁気安定化により、より完全な上清除去が可能
- 非多孔質な磁性ビーズは細孔内の汚染物質を捕捉しないため、非特異的結合が減少し高純度
- 結合特異性が高いため必要なビーズが少なく、低コスト



磁気ビーズによるタンパク質精製は、ハイスループットのマイクロスケール精製、プルダウン／CoIP、タンパク質／タンパク質およびタンパク質／DNA相互作用試験に最適です。

製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
TALON® Magnetic Beads	1 ml×2	635636	¥37,000
	1 ml×6	635637	¥83,000
TALON® Magnetic Beads Buffer Kit	1 Kit	635638	¥62,000
His60 Ni Magnetic Beads	1 ml	635693	¥24,000
	10 ml	635692	¥104,000
Magnetic Stand (2 tubes)	1個	631964	¥12,000

［関連製品］ 細菌または細胞からのHisタグ融合タンパク質抽出に最適な調製済みの抽出バッファー

製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
xTractor™ Buffer Kit	1 Set	635623	¥61,000
xTractor™ Buffer	100 ml	635656	¥20,000
	250 ml	635671	¥35,000
	500 ml	635625	¥54,000

・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。　・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。　・本パンフレットに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。
・本パンフレット記載の価格は2023年12月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2023年12月修正N

タカラバイオ株式会社

首都圏支店・東日本支店・西日本支店　TEL 03-3271-8553
関西支店・営業第2部　TEL 077-565-6969
テクニカルサポートライン
TEL 077-565-6999　FAX 077-565-6995
Website　https://www.takara-bio.co.jp
Facebook　https://www.facebook.com/takarabio.jp

取扱店