

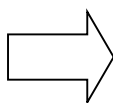
インクルージョンボディ (封入体)にお困りですか？

封入体からのタンパク質可溶化と巻き戻し補助剤

TAPS-sulfonate

こんな悩みに…

- ・封入体を可溶化出来ない
- ・可溶化出来ても巻き戻らない



TAPS-sulfonateによって
可溶化効率の向上と
巻き戻し効率の改善が
期待されます

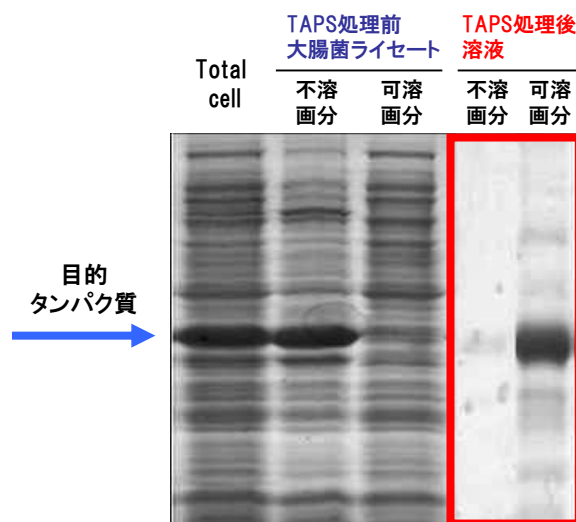
目的タンパク質の可溶化

TAPS-sulfonateはシステイン残基を介してタンパク質に結合し、過剰な正電荷を導入(カチオン化)することで、目的タンパク質の可溶化を促進します。

巻き戻しを阻害する夾雑物の除去

封入体に混在する核酸などの夾雑物は、可溶化したタンパク質の巻き戻しを阻害します。TAPS-sulfonateを用いることで、巻き戻しの妨げになる非タンパク質性の夾雑物のみを、選択的に不溶化、除去することができます。このため、巻き戻し効率の向上が期待されます。

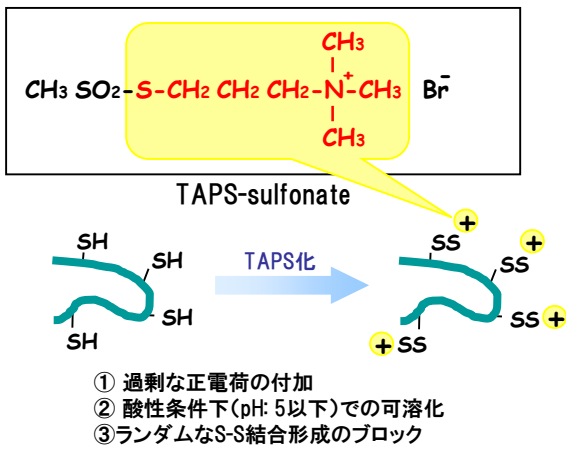
精製例



目的タンパク質の大部分が
可溶性画分に移行

本試薬は、全てのタンパク質について同様の効果を保証するものではありません。タンパク質の種類や性質によっては、十分な効果が得られない場合があります。

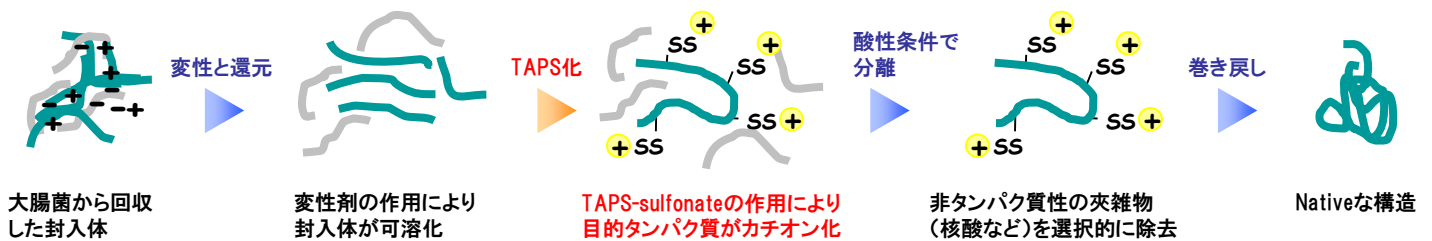
TAPS-sulfonateの作用原理



TAPS-sulfonateは、分子内に強い正電荷を帯びた4級アミンを有しており、システイン残基を介してタンパク質に結合することで、**タンパク質を強力にカチオン化**します。カチオン化タンパク質は、電荷の反発による可溶性の改善が見込まれます。

また、カチオン化されたタンパク質は、特に**酸性条件下 (pH: 5程度)**における**可溶性が、飛躍的に向上**します。このため、酸性条件下において、タンパク質のリフォールディングを阻害する、核酸等の不純物を選択的に不溶化し、除去することが出来ます。これにより、巻き戻し効率の向上が期待されます。

TAPS-sulfonateを用いたタンパク質精製のストラテジー



大量培養した大腸菌から封入体を回収し、尿素や塩酸グアニジン等の変性剤で可溶化します。続いて、DTT等の還元剤で処理し、S-S結合を切断します。

使用した還元剤に対して小過剰量のTAPS-sulfonateを添加し、タンパク質をカチオン化します。このとき、核酸等の非タンパク質性夾雑物は、カチオン化されません。

タンパク質溶液を、酢酸等で弱酸性にします。TAPS化されたタンパク質は可溶性画分に留まり、TAPS化されていない夾雑物のみが沈殿しますので、遠心等で除去します。

透析により十分に変性剤を除去し、低濃度の変性剤と還元剤を含むリフォールディング溶液に分散して、低温で一晩静置します。この時、TAPS-sulfonateは脱離し、タンパク質は熱力学的に安定な構造に巻き戻ります。

そうは言ってもタンパク質のリフォールディングはややこしい...
だから、**分かりやすいユーザーガイド**あります。

弊社HPからダウンロードしてください
<http://katayamakagaku.co.jp/products/lifescience/>

2-4. タンパク質のTAPS化

このステップでは、目的のタンパク質をTAPS化する工程をご紹介します。TAPS-sulfonateは純水に2Mになるように溶解して褐色瓶中で室温保存が可能ですので、溶液を準備しておく便利です。

① TAPS-sulfonateを変性・還元タンパク質を含む溶液中に、使用した還元剤(モル量)のSH基の1.2~1.5倍になるように添加する。

タンパク質中のSH基の量を考慮しても、ほぼこの条件で反応系内全てのSH基を酸化(TAPS化)することができます。前述の条件(30mMのDTT)で還元した場合、DTTは分子内に2つのSH基を含み、SH基が60mMとなりますので、終濃度が72~90mMになるようTAPS-sulfonate水溶液を添加します。

② 室温で30分静置する。

参考文献

- 1) Inoue, M. *et al.*, (1998) *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 28, 207-213
- 2) Seno, M. *et al.*, (1998) *Growth Factors*, 15, 215-229

■ご注文情報

製品名	包装	コード番号	価格(円)
TAPS-sulfonate	1g	130-5070-1	13,000

- ※ 掲載価格は、全て小売希望価格です。
- ※ 価格には消費税は含まれておりません。
- ※ 予告なしに価格が変更になる場合があります。

お問い合わせ

 **片山化学工業株式会社**

L事業開発室

〒562-0015 大阪府箕面市稲4-1-7

TEL: 072-749-3009 FAX: 072-749-3041

<http://www.katayamakagaku.co.jp/>

Mail: webinfo4@katayamakagaku.co.jp