

HIGH Density NICKELとNi-NTAの比較

1. 精製手順

各ゲル 10 μ L秤量
↓
H2O にて 5bed×4回洗浄
↓
サンプルを結合 bufferで
2倍希釈して添加
↓
室温にて1時間振とう
↓
洗浄 (洗浄 buffer), 5分間×3回
↓
各溶出 bufferにて 2bed×2回溶出

(50, 300, 500mM Imidazole)

結合・洗浄 buffer:
10mM Imidazole, 50mM Na-Pi, 0.5M NaCl, pH7.4
溶出 buffer:
50-500mM Imidazole, 50mM Na-Pi, 0.5M NaCl, pH7.4
サンプル: 6×His-8k / E.coli Lysate

2. 結果

SDS-PAGE

サンプル:6×His-8k 溶出画分ゲル:15 % (Tris-Glycine)

染色:CBB

1:6×His-8k/E.coli Lysate

2, 7: Flow through

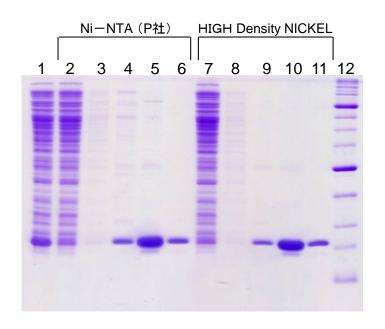
3, 8 : Wash

4, 9:50mM Imidazole

5, 10: 300mM Imidazole

6, 11:500mM Imidazole

12: MW marker



各種金属イオンを固定化したゲルを使用して 6×His-8k を精製後、電気泳動にて純度の評価をした。High Density Nickel は300mM の回収量は多いが、50mM ではコンタミバンドが確認されている。 High Density Cobalt、Nickel Rapid Run では High Density Nickel よりも収量は落ちるが純度よく回収できていることがわかった。また他社と比較しても収量がよいことがわかる。

プロテノバ株式会社

〒769-2604

香川県東かがわ市西村1488番地1 TEL 0879-49-0702 / FAX 0879-49-0703

ホームページ http://protenova.com