

Bisindolylmaleimide X(Bis X)の結合タンパク質の精製

Bisindolylmaleimide X hydrochlorideの固定化 (プロトコール 014)

NHS beads	5 mg (×4)
化合物	0 mM (DMF 1000 μl)
	0.1 mM (2 mM 50 μl + 4 mM Et ₃ N 50 μl + DMF 900 μl)
	0.3 mM (2 mM 150 μl + 4 mM Et ₃ N 150 μl DMF 700 μl)
	1 mM (2 mM 500 μl + 4 mM Et ₃ N 500 μl)

70分

マスキング

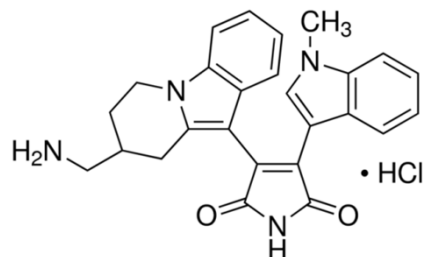
1 M アミノエタノール 1000 μl

2時間

Bisindolylmaleimide X固定化ビーズ 各5 mg

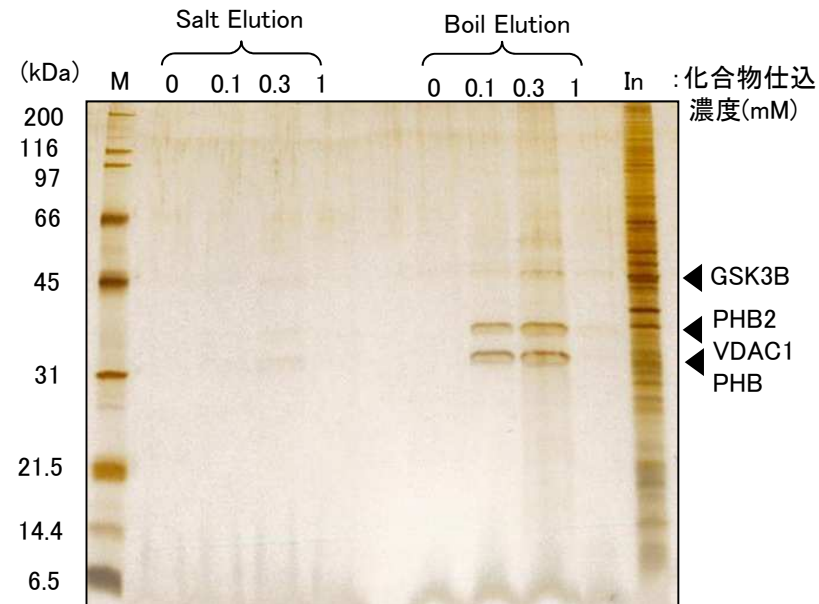
アフィニティ精製(スクリーニング)

(プロトコール 001)



Bisindolylmaleimide X hydrochloride

※国内製薬企業との実施



条件

ビーズ	: BisX固定化ビーズ
固定化濃度	: 0, 0.1, 0.3, 1 mM
ビーズ量	: 0.5 mg
結合・洗浄Buffer	: 20 mM HEPES-NaOH(pH7.9), 100 mM KCl, 1 mM MgCl ₂ , 0.2 mM CaCl ₂ , 0.2 mM EDTA, 10% glycerol, 0.1% NP-40, 1 mM DTT, 0.2 mM PMSF
溶出Buffer	: ①1M KCl バッファー(30 μl) (Salt Elution) ②サンプルバッファー(30 μl) (Boil Elution)
タンパク質	: 送付溶液
タンパク質濃度	: 0.2 mg/ml (1000 μl)
反応時間	: 4 時間

タンパク質の非特異的な吸着がほとんどなく、Bis X の結合タンパク質を高純度で精製することができました。また、同様な方法で実施したアガロースビーズでは精製できなかった結合タンパク質を精製することができました。