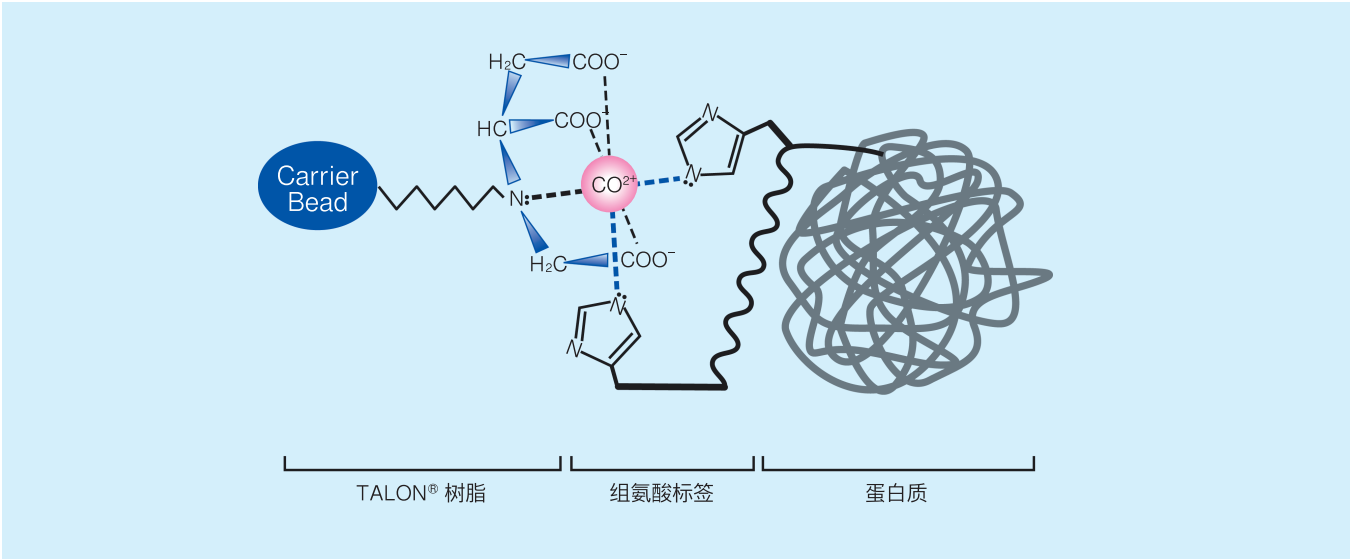
其实目的条带也可以“很单纯”，只是没选对方法才让它“变复杂”！
His-tag蛋白质高纯度纯化的“利爪”，您需要的TALON钴离子树脂！

TALON® Purification Resins

稳：结构稳定，4个配位基团螯合固定Co^{2+}，避免金属离子脱落
准：产物特异，纯度高，所采用的Co^{2+}对组氨酸重复序列有高特异性的吸附能力
很：很灵活，可在多种条件下纯化蛋白质，即使样品处于尿素或盐酸胍的变性条件下，或者样品含有较高浓度的β-ME

TALON® Resin具有清晰的分子机制

TALON® Resin 的基本结构



TALON® Resin 的纯化原理

传统的Ni^{2+}树脂对蛋白质的空间构象要求不严格，还可以与除了组氨酸标签之外的其他位置的组氨酸、色氨酸以及半胱氨酸的残基相结合。而TALON®树脂的活性中心呈“三维口袋”结构，只有相邻的、相间的或者某个特定位置上的组氨酸可与活性中心的钴离子结合，具有很强的亲和特异性和选择性。

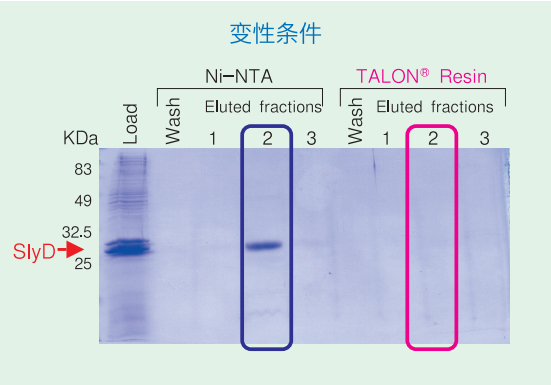
此外，钴离子树脂的结构更规则、均一，“三维口袋”结构中，4个配位基团螯合固定Co^{2+}提高了稳定性，很少发生由于金属离子脱落导致的目的蛋白质的损失。而镍树脂的均一性要差一些，因为它会形成两种不同的配位结构，一种是类似TALON®的三维口袋结构，另一种则是扁平的结构，其中的镍离子仅和两个羧基基团和一个氮原子结合，这种结合力不强，导致扁平中心不能抓牢镍离子，因而其容易从树脂中泄漏出来。

所以呢，如果您在纯化His-tag蛋白质，想要寻找一种特异性高的纯化方法，那就是TALON®！

TALON® Resin 具有高特异性吸附的能力

TALON® Resin 纯化产物特异性更高

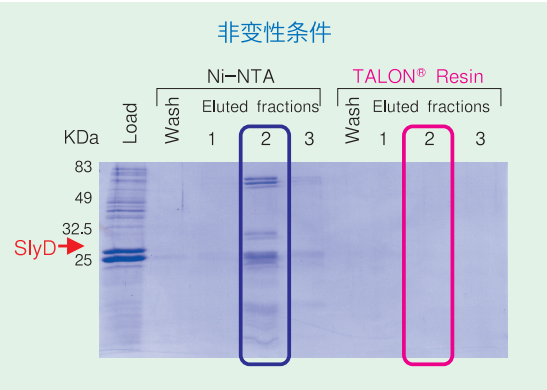
比较Ni-NTA Resin和TALON® Resin对细菌菌株BL21（DE3）pLysS中SlyD蛋白质(27 kDa)的非特异吸附情况，结果如下。（SlyD：含有2价金属离子结合部位的脯氨酰异构酶）



Ni-NTA Resin 对 SlyD 蛋白质有非特异性吸附。

↓

Ni-NTA Resin纯化的产物有非目的蛋白质的混入。



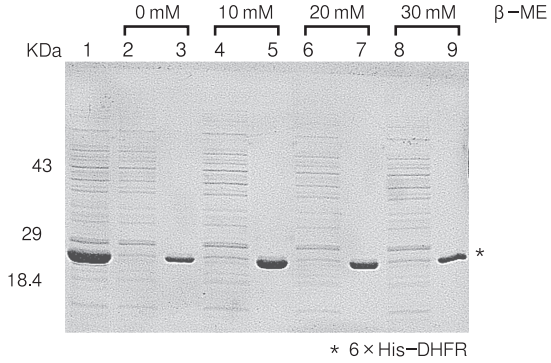
无论是在变性条件还是在非变性条件下，TALON® Resin 均没有发生非特异性的吸附。

↓

TALON® Resin纯化的产物中没有混入杂蛋白质，产物纯度更高！

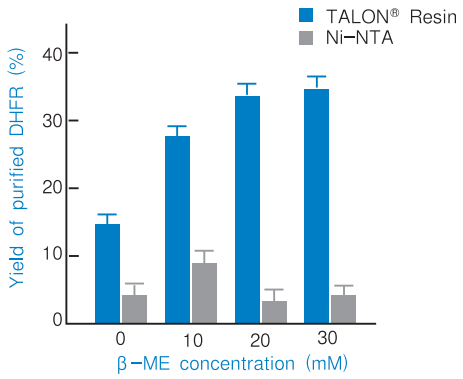
TALON® Resin 对 β-ME 具有较高的耐受性

某些细胞的胞内蛋白质含有还原型巯基基团（-SH），该基团对于蛋白质的生物活性和结构都非常重要。加入β-ME有助于在纯化过程中保护蛋白质的巯基。



* 偶数泳道： 20 μl穿透流出液
奇数泳道： 5 μl洗脱产物

收集2 ml大肠杆菌裂解液中的N-末端融合蛋白质6×His-DHFR（19.5 kDa），在不同浓度的β-ME条件下采用TALON® Resin 纯化目标蛋白质。实验结果表明，在β-ME存在的条件下，随着其浓度增高，TALON® Resin的纯化能力和产物特异性仍然保持稳定。



在非变性条件下(β-ME存在时)比较Ni-NTA和TALON®两种树脂对细胞裂解液中6×His-DHFR的纯化结果。实验结果表明，在非变性条件下，随着β-ME浓度的增加，采用TALON® Resin纯化的效果稳定，而Ni-NTA的纯化效率下降，无法耐受较高浓度的β-ME。

TALON® Resin 具有多种灵活的产品类型

横向比较不同种类产品的参数

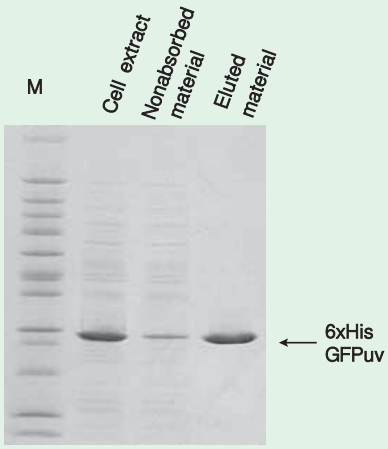
预装型色谱柱			
	HisTALON Superflow Cartridge	HisTALON Gravity Columns	TALON Spin Columns
预装柱	是	是	是
结合能力 (mg蛋白质/ml树脂)	5–20	5–20	4–8
起始材料	澄清裂解液	澄清裂解液	澄清裂解液
应用于FPLC	可以	不可以	不可以
操作省时	+++	+++	+++++
最大压力	· 75 psi · 5 bar · 0.5 MPa	不耐压	不耐压
最大流速(ml/min)	· 10 (1–ml cartridge) · 40 (5–ml cartridge)	重力	重力
粒径（μm）	60–160	45–165	45–165
应用	应用于FPLC、中压层析或放大生产应用	在天然或变性条件下，通过小量纯化大多数胞质和分泌型的含组氨酸标签的蛋白质	适合小规模一次性使用，例如可筛选高表达目的蛋白质（含组氨酸标签）的阳性克隆

散装型树脂				
	TALON Metal Affinity Resin	TALON Superflow Metal Affinity Resin	TALON Magnetic Beads	TALON CellThru
预装柱	不是	不是	不是	不是
结合能力 (mg蛋白质/ml树脂)	5–15	5–18	2–15	5–10
起始材料	澄清裂解液	澄清裂解液	澄清裂解液	非澄清裂解液
应用于FPLC	不可以	可以	不可以	不可以
操作省时	+	+	+++	+++
最大压力	· 2.8 psi · 0.25 bar · 0.02 MPa	· 150 psi · 10 bar · 0.97 MPa	不耐压	· 9 psi · 0.62 bar · 0.06 MPa
最大流速(ml/min)	0.5	50	磁力	13
粒径（μm）	45–165	60–160	20–75	300–500
应用	在天然或变性条件下，通过分批/重力流来纯化大多数胞质和分泌型的含组氨酸标签的蛋白质	应用于FPLC、中压层析或放大生产应用	用于从澄清的细胞粗提物或培养液中快速、简便的小规模纯化蛋白质以及进行高通量的小规模蛋白质纯化	从细胞裂解液的粗提物、超声破碎液和发酵液中快速纯化含组氨酸标签的蛋白质

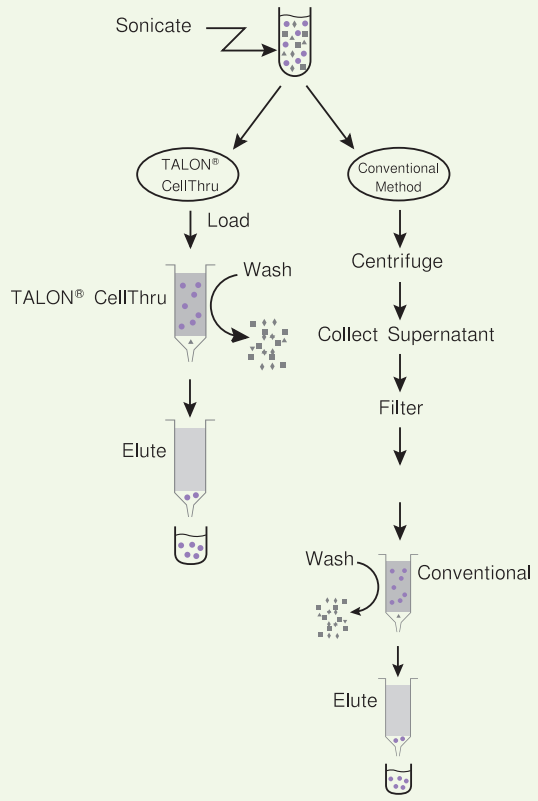
新颖的IMAC树脂–TALON® CellThru

TALON® CellThru是一种可以直接从细胞裂解液的粗提物、超声裂解液和发酵液中纯化组氨酸标签融合蛋白质的IMAC树脂。非澄清的蛋白质粗制样品无需离心即可直接采用TALON® CellThru进行蛋白质纯化，由于迅速移除了蛋白酶可以实现蛋白质降解最小化、回收率最大化；另外，TALON® CellThru允许细胞碎片通过，可以有效捕捉原本在离心过程中会随细胞碎片沉淀的膜结合蛋白质或者多蛋白质复合体，因此TALON® CellThru是纯化膜结合蛋白质或者多蛋白质复合体的理想选择。

利用 TALON® CellThru 纯化的蛋白质电泳图



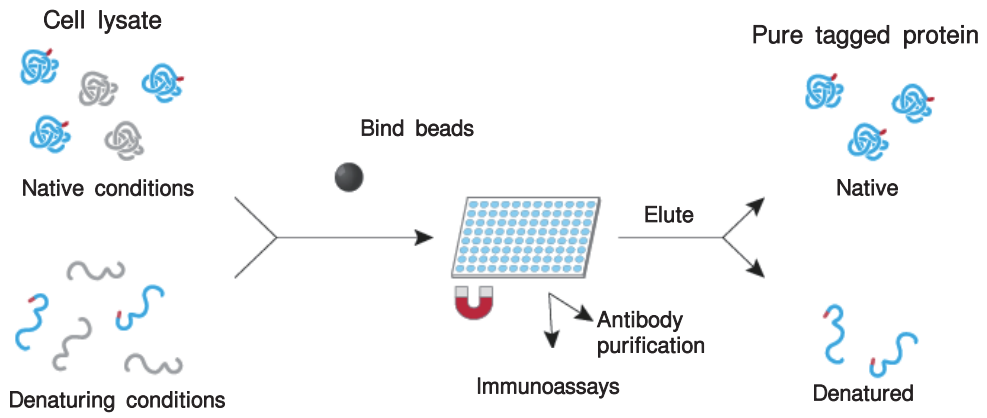
在TALON® wash buffer中超声裂解破碎*E. coli* BL21细胞，然后使用TALON® CellThru树脂进行纯化，再用含150 mM咪唑的buffer洗脱，产物的SDS–PAGE结果如图所示。请注意，有些目的蛋白质包裹在膜结构中没有被柱子吸附。M泳道为分子量标准。



利用TALON® CellThru从细胞裂解液的粗提物中纯化融合蛋白质的速度明显优于传统方法。

灵活方便的IMAC树脂––TALON® 磁珠

TALON® 磁珠结合了TALON结构的高选择性和磁珠操作的高易用性特点，当置于磁力架上时，磁性颗粒有助于简单快速地分离微量蛋白质。借助磁珠颗粒的磁性稳定，操作时可以更彻底地去除上清液，背景更干净。而无孔结构的磁珠没有孔隙内捕获污染物的缺点，从而减少非特异性结合，是高通量的小量纯化、pull–down/Co–IP以及蛋白质–蛋白质或蛋白质–DNA互作研究的很好的选择。



纵向了解每个产品的应用

材质	样品类型	应用及描述	制品名称	货号	规格	瓶装	空柱	抽提缓冲液	纯化缓冲液
树脂	细胞裂解上清液	重力流纯化树脂，使用者根据实验用量自行装柱，适合大量制备实验	TALON® Metal Affinity Resin	635501	10 ml	●			
				635502	25 ml	●			
				635503	100 ml	●			
				635504	250 ml	●			
				635652	2 × 250 ml	●			
				635653	4 × 250 ml	●			
		重力流纯化色谱柱，柱中已预装1 ml树脂，Kit产品中还提供相应的缓冲液	HisTALON™ Gravity Column Purification Kit	635654	5 × 1 ml Columns	● 预装柱		●	●
			HisTALON™ Gravity Columns	635655	5 × 1 ml Columns	● 预装柱			
		重力流纯化用的空柱子，可容纳2 ml树脂	TALON® 2 ml Disposable Gravity Column	635606	50 Columns		●		
		适用于FPLC纯化的树脂，使用者根据实验用量自行装柱，适合大量制备实验	TALON® Superflow Metal Affinity Resin	635506	25 ml	●			
				635507	100 ml	●			
				635668	4 × 250 ml	●			
				635669	2 × 250 ml	●			
				635670	250 ml	●			
		适用于FPLC纯化的色谱柱，柱中已预装树脂，Kit产品中还提供相应的缓冲液	HisTALON™ Superflow Cartridge Purification Kit	635649	5 × 1 ml Cartridges	● 预装柱		●	●
				635681	5 × 5 ml Cartridges	● 预装柱		●	●
			HisTALON™ Superflow Cartridges	635650	5 × 1 ml Cartridges	● 预装柱			
				635682	5 × 5 ml Cartridges	● 预装柱			
				635683	1 × 5 ml Cartridge	● 预装柱			
		与TALON树脂配套的抽提和纯化缓冲液套装	HisTALON™ Buffer Set	635651	20 Purifications			●	●
		小型离心柱形式的产品，其中预装了TALON树脂，适合小量样品较快速纯化	TALON® Spin Columns	635601	10 × 0.5 ml Columns	● 预装柱			
				635602	25 × 0.5 ml Columns	● 预装柱			
				635603	50 × 0.5 ml Columns	● 预装柱			
	粗细胞裂解液	可以从粗细胞裂解液、超声破碎裂解液和发酵液中纯化His标签蛋白质	TALON® CellThru	635509	10 ml	●			
				635510	100 ml	●			
		与TALON® CellThru配套的空柱子	CellThru 10-ml Disposable Columns	635513	20 Columns		●		
磁珠	细胞裂解上清液	结合了TALON 树脂高特异性纯化与磁珠分离方法的优势。通过磁珠的磁性吸附可以快速方便地分离蛋白质	TALON® Magnetic Beads	635636	2 × 1 ml	●			
				635637	6 × 1 ml	●			
			TALON® Magnetic Beads Buffer Kit	635638	Each			●	●

His 标签蛋白质纯化概述

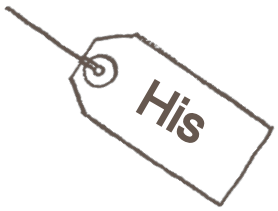
为什么进行标签蛋白质纯化?

在蛋白质分离纯化研究中，很多蛋白质的物理特性没有被充分了解，或者没有找到一些可用于纯化的强结合特性。对于这些问题，解决的办法之一是在目的蛋白质的氨基酸上融合纯化标签，构建一个可使用普通方法进行纯化的带有特定标签的重组蛋白质。Takara公司拥有丰富的His标签蛋白质纯化产品，例如能够显著缩短操作时间的Capturem™树脂和产物纯度高、应用Co^{2+}的TALON®树脂。您可以根据实验目的以及下游应用选择适合您的产品。

His标签的优势

- 分子量小
- 不容易影响野生型蛋白质的结构和功能
- 易于克隆
- 可灵活构建于N末端或C末端
- 可用于纯化天然和变性蛋白质，深受研究人员的欢迎*

*超过 75% 的研究人员使用His标签纯化蛋白质

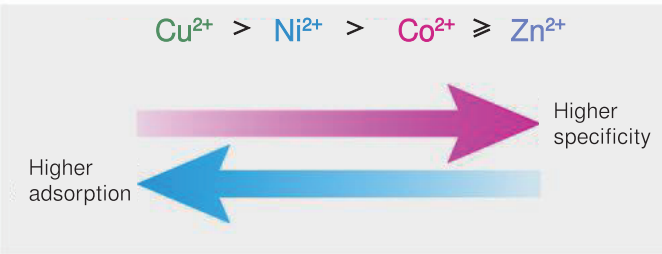


金属离子的区别

His标签蛋白质常使用固定化金属亲和色谱(IMAC)树脂进行纯化，该树脂具有多种金属离子活性中心——最常见的是镍（Ni^{2+}）或钴（Co^{2+}）树脂。不同的金属离子在反应核心中的空间定位影响了其与组氨酸结合的特异性和结合力，这导致了基于Co^{2+}和Ni^{2+}的IMAC树脂的性能差异。钴树脂特异性更高，因而产物纯度更高，而镍树脂吸附性更好，从而具有更高的结合能力。每种树脂都有其优点和局限性，所以要根据具体应用决定。

特异性vs结合力

常见的固定化金属离子



Co^{2+} =高特异性=高纯度

Ni^{2+} =高吸附性=高结合力

	优点	应用
镍离子树脂	● 产物收量高 ● 兼容天然或变性的纯化条件 ● Ni^{2+}泄漏率较低	● 蛋白质标记 ● 抗原制备 ● 注射动物
钴离子树脂	● 产物纯度高 ● 对His标签蛋白质具有高度特异性 ● 杂质污染少	● 晶体结构分析 ● 功能分析 ● 结构研究

不同的His标签蛋白质纯化方法比较

	金属离子	纯度	收量	结合能力（mg蛋白质/ml基质）	操作耗时	易用性
Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit	Ni^{2+}	★★★★	0.1 mg/mini spin column	100 mg/ml	5 min	★★★★★
His60 Ni树脂	Ni^{2+}	★★★★	60 mg/ml resin	60 mg/ml	60–120 min	★★★
TALON树脂	Co^{2+}	★★★★★	20 mg/ml resin	20 mg/ml	60–120 min	★★★
磁珠	Ni^{2+}/Co^{2+}	★★★★★	15 mg/ml resin	15 mg/ml	60 min	★★★★

Takara 丰富的蛋白质纯化产品线

对于从事蛋白质研究的人员来说，纯化操作可谓是太普（jiu）通（xin）了，它看似风平浪静，只需要“平衡–上样–洗涤–洗脱”按部就班的操作，实则险象环生，一点样品或者buffer的改变都有可能让我们从头再来，这时常让我们感慨“原来你是这样的蛋白质纯化！”即便如此，我们从没有停止对过程的优化和对结果的追求，慢慢的我们发现，找到一件得心应手工具才能让成功来的更猛烈一些！接下来，就让我们在Takara的产品线里寻找一款称心的“工具”吧！

- 蛋白质纯化
  - 标签蛋白质纯化
    - His标签
      - 以Ni^{2+}为配基
        - **高产量的树脂** His60 resins
        - **高效快速的膜纯化** Capturem™ his–tag series
      - 以Co^{2+}为配基
        - **高特异性的树脂** TALON® resins
    - GST标签
      - 高效的GST纯化树脂 GST Purification Resin
    - FLAG标签
      - FLAG标签抗体以及相关buffer
      - FLAG标签表达载体组合 pCMV–DYKDDDDK Vector Set
    - Myc标签
      - Myc标签纯化琼脂糖珠 c–Myc Agarose Beads
      - Myc和HA标签检测用抗体 Myc & HA Tag Antibodies
      - Myc和HA标签表达载体 pCMV–Myc & pCMV–HA Vector Set
      - Myc标签磁珠法免疫沉淀试剂盒 Magnetic Myc IP Kit
  - 无标签蛋白质纯化
    - 抗体
      - 抗体快速纯化膜技术 Capturem™ Protein A & Protein G series
      - 抗体纯化嗜硫树脂 Thiophilic–Superflow Resin
    - 糖蛋白
      - 糖蛋白富集树脂&不依赖抗体的检测试剂盒 Glycoprotein Enrichment & Detection
    - 磷蛋白
      - 磷酸肽富集离心柱 Phosphopeptide Spin Columns
      - 磷蛋白富集树脂试剂盒 Phosphoprotein Enrichment Kit
      - 磷蛋白富集磁珠试剂盒 Phosphoprotein Magnetic Kit

TALON® 高分文献列表

1. Sagar Bhogaraju, Florian Bonn, Rukmini Mukherjee, *et al* . Inhibition of bacterial ubiquitin ligases by SidJ/Calmodulin-catalyzed glutamylation[J]. ***Nature***, 2019, 572(7769): 382-386.
2. Sheng Wang, Tao Che, Anat Levit, *et al*. STRUCTURE OF THE D2 DOPAMINE RECEPTOR BOUND TO THE ATYPICAL ANTIPSYCHOTIC DRUG RISPERIDONE[J]. ***Nature*** 2018, 555(7695): 269-273.
3. Hsin-Yung Yen, Kin Kuan Hoi, Idlir Liko, *et al*. PIP2 stabilises active states of GPCRs and enhances the selectivity of G-protein coupling[J]. ***Nature***, 2018, 559(7714): 423-427.
4. Zhenlin Yang, Shuo Han, Max Keller, *et al* . Structural basis of ligand binding modes at the neuropeptide Y Y1 receptor[J]. ***Nature***, 2018, 556(7702): 520-524.
5. Haonan Zhang, Anna Qiao, Dehua Yang, *et al* . Structure of the full-length glucagon class B G protein-coupled receptor[J]. ***Nature***, 2017, 546(7657): 259-264.
6. Tian Hua, Kiran Vemuri, Spyros P. Nikas, *et al* . Crystal structures of agonist-bound human cannabinoid receptor CB1[J]. ***Nature***, 2017, 547(7664): 468-471.
7. Jan Mauer, Xiaobing Luo, Alexandre Blanjoie, *et al* . Reversible methylation of m6Am in the 5′ cap controls mRNAstability[J]. ***Nature***, 2017, 541(7637): 371-375.
8. Changkeun Lee, Jiangtao Guo, Weizhong Zeng, *et al*. The Lysosomal Potassium Channel TMEM175 Adopts a Novel Tetrameric Architecture[J]. ***Nature***, 2017, 547(7664): 472-475.
9. Yang Liu, Jianying Liu, Senyan Du, *et al*. Evolutionary enhancement of Zika virus infectivity in Aedes aegypti mosquitoes[J]. ***Nature***, 2017, 545(7655): 482-486.
10. Haitao Zhang, Gye Won Han, Alexander Batyuk, *et al*. Structural Basis for Selectivity and Diversity in Angiotensin II Receptors[J]. ***Nature***, 2017, 544(7650): 327-332.
11. Wei Mi,1 Yanyan Li,3 Sung Hwan Yoon, *et al* . Structural basis of MsbA-mediated lipopolysaccharide transport J]. ***Nature***, 2017, 549(7671): 233-237.
12. Madhusudhan Srinivasan, Johanna C. Scheinost, Naomi J. Petela, *et al*. The Cohesin Ring Uses Its Hinge to Organize DNA Using Non-topological as well as Topological Mechanisms[J]. ***Cell***, 2018, 173(6): 1508-1519.e18.
13. Yasuto Murayama, Catarina P. Samora, Yumiko Kurokawa, *et al*. Establishment of DNA-DNA Interactions by the Cohesin Ring[J]. ***Cell***, 2018, 172(3): 465-477.e15.
14. Tao Che, Susruta Majumdar, Saheem A. Zaidi, *et al* . Structure of a nanobody-stabilized active state of the kappa opioid receptor[J]. ***Cell***, 2018, 172(1-2): 55-67.e15.
15. Yao Peng, John D. McCorvy, Kasper HarpsΦe, *et al*. 5-HT2C Receptor Structures Reveal the Structural Basis of GPCR Polypharmacology[J]. ***Cell***, 2018, 172(4): 719-730.e14.
16. Qi Hu, Kevan M. Shokat. Disease-causing mutations in the G protein Gαs subvert the roles of GDP and GTP [J]. ***Cell***, 2018, 173(5): 1254-1264.e11.
17. Matthew T. Eddy, Ming-Yue Lee, Zhan-Guo Gao, *et al* . Allosteric Coupling of Drug Binding and Intracellular Signaling in the A2A Adenosine Receptor[J]. ***Cell***, 2018, 172(1-2): 68-80.e12.
18. Yin Yao Dong, Hua Wang, Ashley C.W. Pike, *et al*. Structures of DPAGT1 Explain Glycosylation Disease Mechanisms and Advance TB Antibiotic Design[J]. ***Cell***, 2018, 175(4): 1045-1058.e16.
19. Daniel Wacker, Sheng Wang, John D. McCorvy, *et al*. Crystal structure of an LSD-bound human serotonin receptor [J]. ***Cell***, 2017, 168(3): 377-389.e12.
20. Lin Lin, Frederico S.L.M. Rodrigues, Christina Kary, *et al*. Complement-related regulates autophagy in neighboring cells[J]. ***Cell***, 2017, 170(1): 158-171.e8.
21. Qianhui Qu, Yohhei Takahashi, Yidai Yang, *et al* . Structure and conformational dynamics of a COMPASS histone H3K4 methyltransferase complex[J]. ***Cell***, 2017, 174(5): 1117-1126.e12.
22. Mitra S. Rana, Pramod Kumar, Chul-Jin Lee, *et al*. Fatty acyl recognition and transfer by an integral membrane S-acyltransferase[J]. ***Science***, 2018, 359(6372): eaao6326.

・本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
・未经本公司许可，严禁产品的转售・转让、以转售・转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
・专利许可信息请在本公司网站上确认：https://www.takarabiomed.com.cn/。
・本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
・本宣传页仅限于中国大陆地区客户使用，其他地区客户请咨询当地代理商。
・本宣传页上记载的产品信息是2020年9月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.2　　2020年9月制作

宝日医生物技术（北京）有限公司

电话：4006518761　4006518769
E-mail：service@takarabiomed.com.cn
网址：www.takarabiomed.com.cn