

# FK506 (タクロリムス) 結合タンパク質の精製

FK506は、藤沢薬品工業（現アステラス製薬）が土壌細菌から採取、臨床開発した免疫抑制剤で、同種のシクロスポリンAの100倍の効果があると知られています。この実験では、FG beadsへFK506を固定化し、細胞抽出液からFK506の結合タンパク質として知られているFKBP12を精製しました。

## Method 1 FK506の固定化 (プロトコール 016)

COOH beads 4 mg (1 mg×4条件)

固定化反応

FK506仕込み濃度(mM)	0	3	10	30
COOH beads (mg)	1	1	1	1
DMF (μl)	200	176	126	0
100 mM i-Pr2NEt (μl)	0	10	30	90
100 mM TFFH (μl)	0	4	12	36
100 mM FK506 (μl)	0	6	20	60
10 mM Oxyma (μl)	0	4	12	36
合計 (uL)	200	200	200	200

一晩, 室温

NHS化

DMF 160 μl, 1M HOSu 40 μl, EDC・HCl 7.7 mg

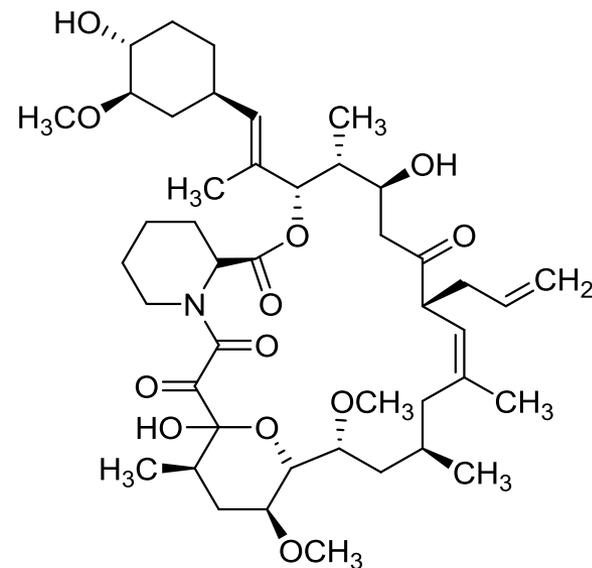
2時間, 室温

マスキング

1 M アミノエタノール 200 μl

2時間, 室温

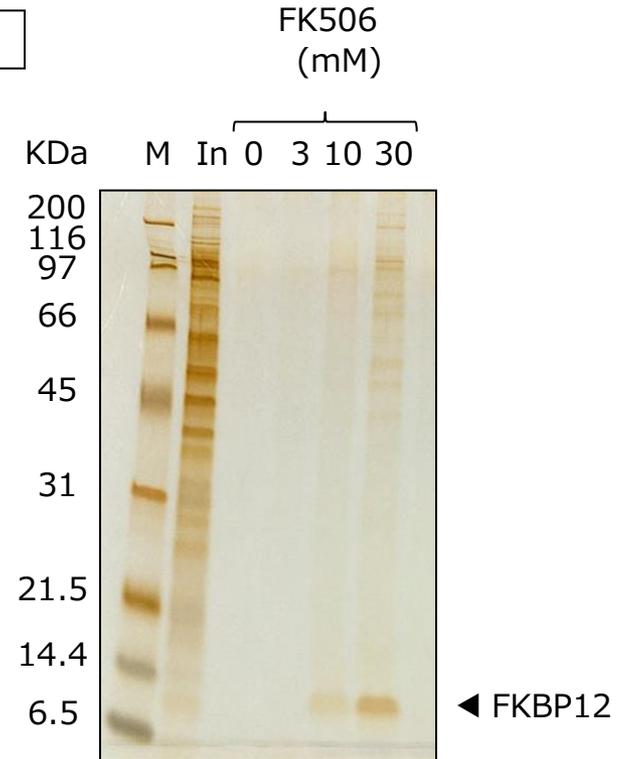
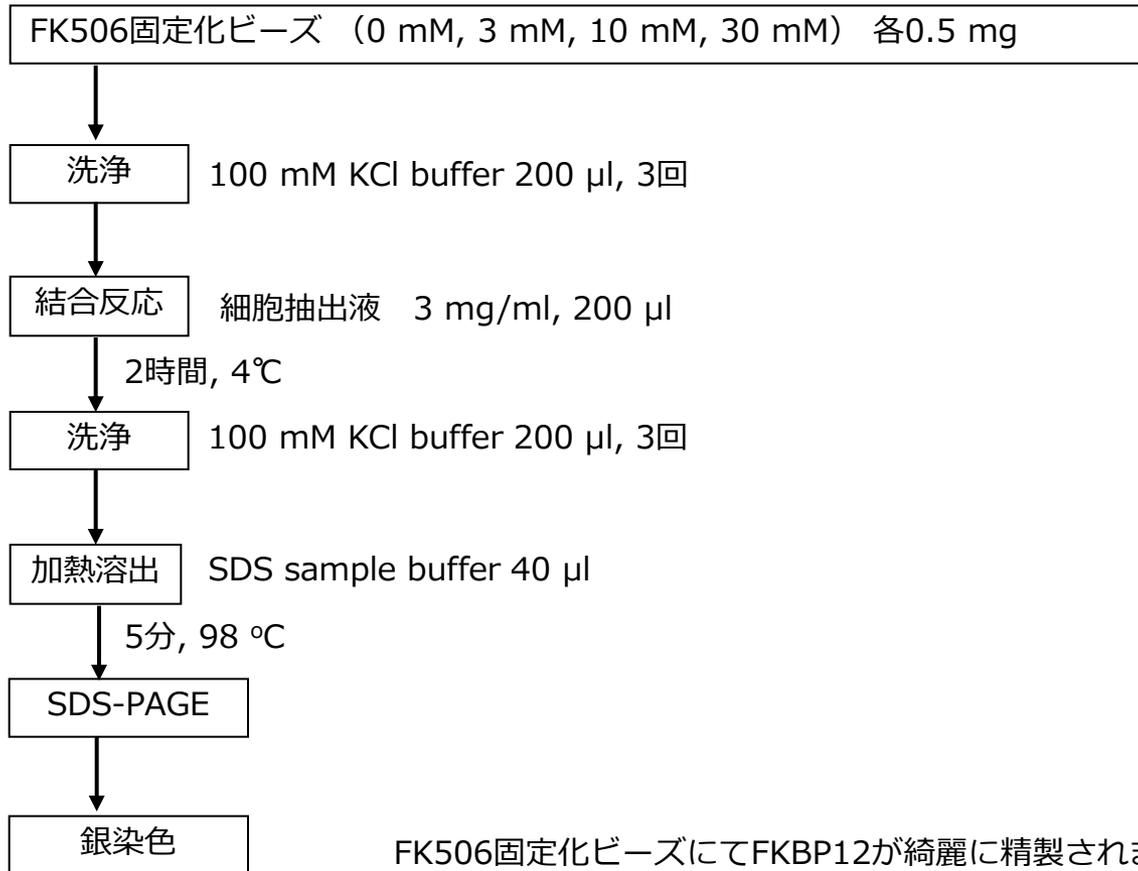
FK506固定化ビーズ (0 mM, 3 mM, 10 mM, 30 mM) 各 1 mg



FK506  
(Tacrolimus)

# FK506 (タクロリムス) 結合タンパク質の精製

## Method 2 FK506固定化ビーズによるアフィニティ精製 (プロトコール001)



FK506固定化ビーズにてFKBP12が綺麗に精製されました。  
回収されたFKBP12の量は、ビーズに固定化されたFK506の量に比例して増加しました。  
FKBP12は質量分析によって同定されました。