

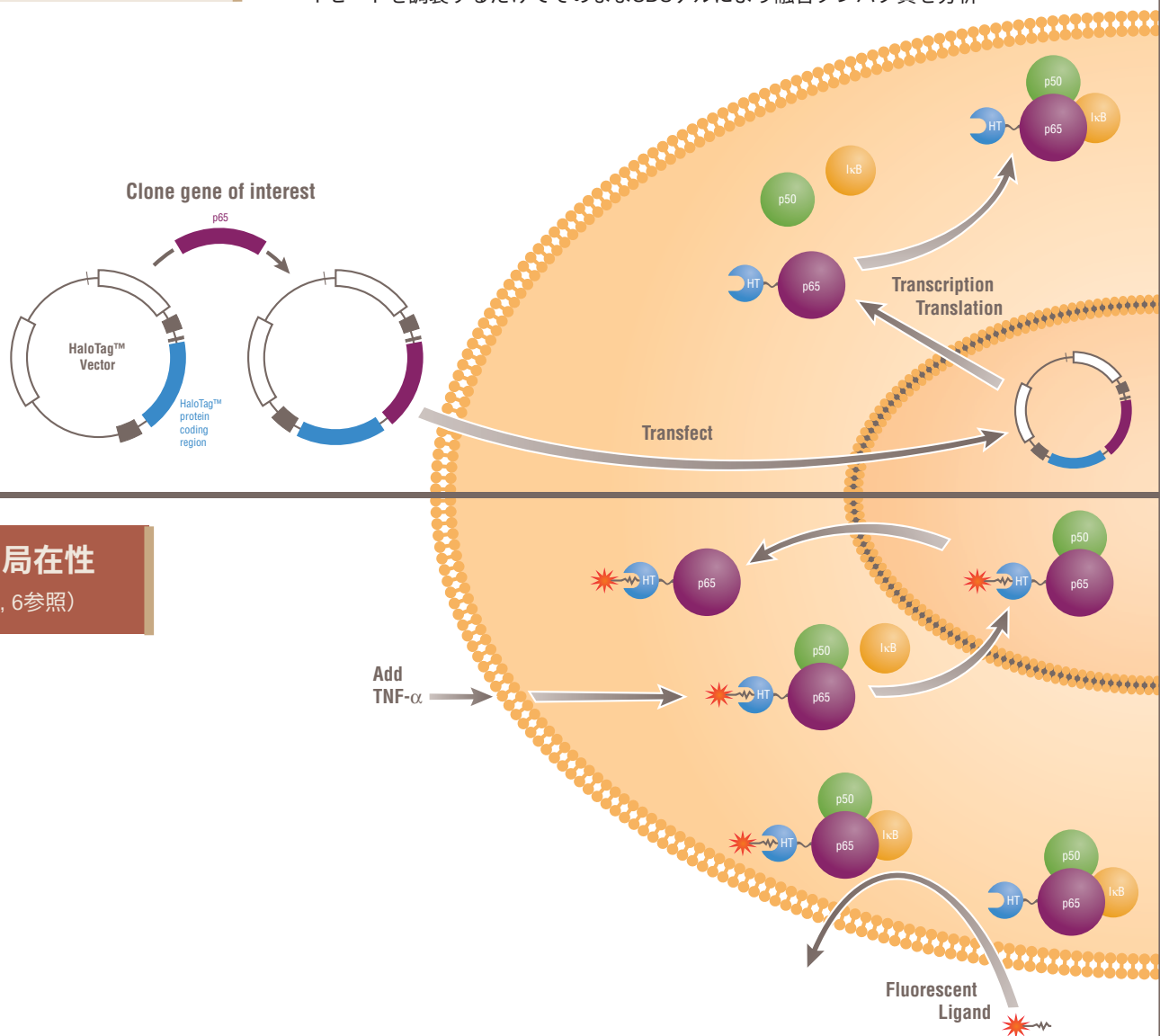
HaloTag™ Interchangeable Labeling Technology Application Overview

HaloTag™ テクノロジー

様々なアプローチで標的タンパク質を用いた研究をサポートする優れたツールです。この新しいテクノロジーを利用した実験例として、NF- κ Bパスウェイの中のp65をクローニングし、HaloTag™ タンパク質との融合タンパク質として発現させた系を示します。細胞内イメージングおよびタンパク質分析の両方を同じコンストラクトより実施することができます。

細胞内イメージングにおける利点

- **1つのコンストラクトで複数のアプリケーション**：新しい機能を利用するためにコンストラクトを変更する必要が無く、使用するHaloTag™ リガンドを換えるだけ。
- **生細胞および固定細胞のイメージング**：HaloTag™ 融合タンパク質とHaloTag™ リガンドの結合は安定な共有結合なので固定細胞のイメージングや厳しい条件下における標識タンパク質の分析が容易
- **タンパク質発現をリアルタイムにモニタリング**：マルチカラーによるパルス-チェイス標識が可能
- **融合タンパク質を特異的に標識**：HaloTag™ リガンドはHaloTag™ 融合タンパク質に特異的に結合し、哺乳動物細胞のその他のタンパク質には結合しません。
- **迅速なCell-To-Gel分析**：共有結合を利用するので、細胞をイメージングした後、ライセートを調製するだけでそのままSDSゲルにより融合タンパク質を分析

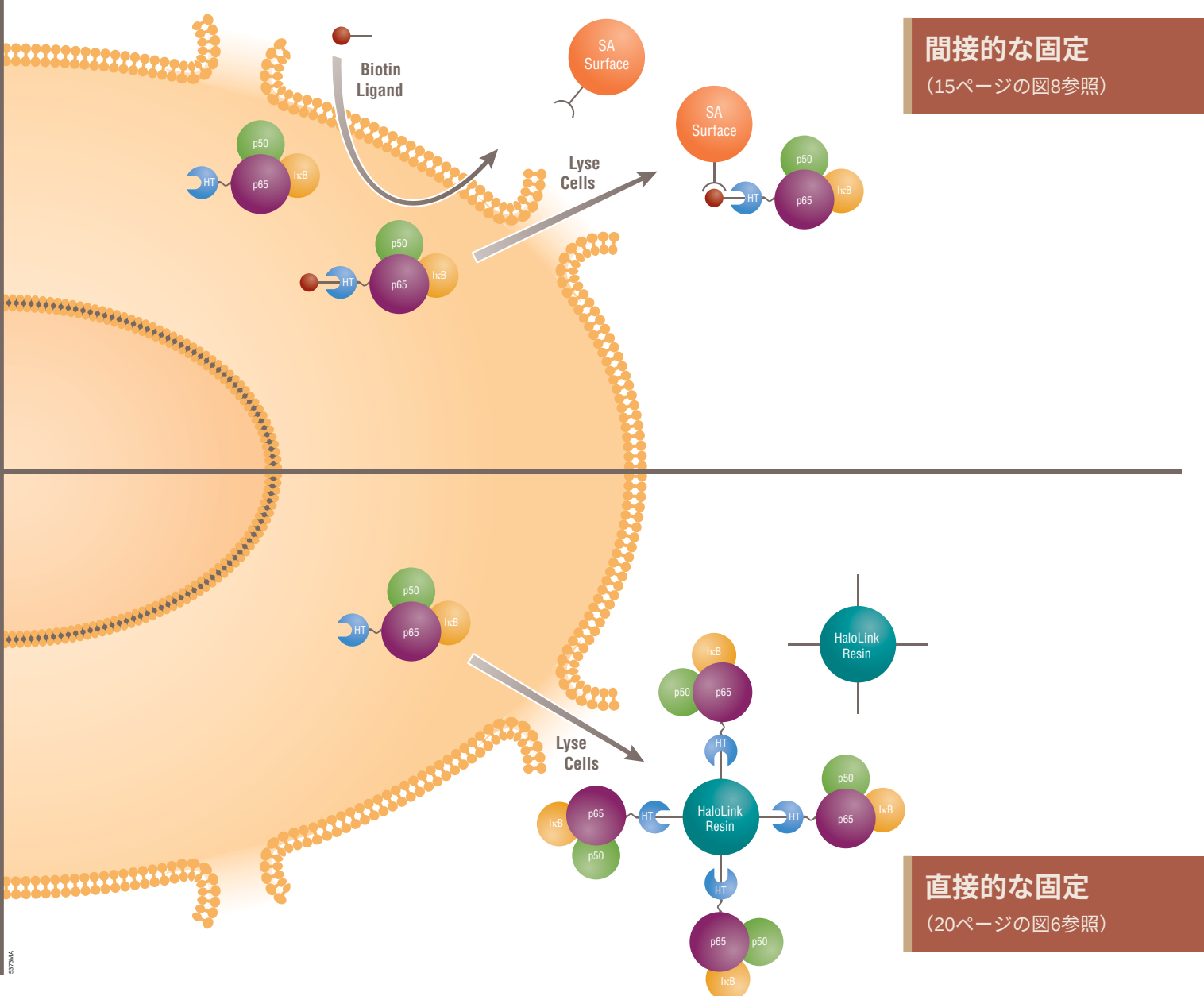


タンパク質の局在性

(14,15ページの図5, 6参照)

タンパク質分析における利点

- **非特異的結合は最低レベル**：リガンドやリガンドコート表面への共有結合により強い洗浄にも耐え、HaloLink™ Resinを用いればHaloTag™ 融合タンパク質が外れることなく、非特異的バックグラウンドも最低レベル
- **方向性を維持した固定**：結合したタンパク質の酵素活性を最大限に引き上げます。
- **優れたタンパク質間相互作用検出**：HaloTag™ とリガンドとの速い結合速度により、低濃度のタンパク質でもリガンドが効率よく結合し、希少なイベントでも検出可能
- **従来法との併用**：ビオチンリガンドを使用することでストレプトアビジンによる様々な検出法を利用可能



間接的な固定

(15ページの図8参照)

直接的な固定

(20ページの図6参照)