

(90×210mm Size)

FUJIFILM

Wako

Code No. 133-18611 (2 mL)

MagCapture™ HP Tamavidin® 2-REV

MagCapture™ HP タマビジン® 2-REV

MagCapture™ HP Tamavidin® 2-REV is the slurry of Tamavidin® 2-REV immobilization magnetic beads which is adopted the smaller particle size of magnetic beads than MagCapture™ Tamavidin® 2-REV (Code No. 136-18341). The recovery performance of biotinylated samples (protein, DNA, RNA and so on.) has been improved than MagCapture™ Tamavidin® 2-REV.

Tamavidin® 2-REV is a genetic mutant of Tamavidin® 2 which is identified as a novel avidin-like protein from mushroom. Tamavidin® 2-REV is a useful tool for the purification of biotinylated molecules such as nucleic acids, chemicals, antibodies and enzymes by the competitive biotin elution method.

[Formulation]

10 mg/mL Tamavidin® 2-REV magnetic beads, 1 × TBS (pH 7.4), 50 w/v% glycerol, 0.05 w/v% sodium azide.

[Source/Tamavidin® 2-REV]

E. coli expressed Tamavidin® 2-REV.

[Assay]

Please optimize the condition for your samples and experiments.

[Additional materials]

Magnetic separation stand, Centrifuge, Rotator, Vortex mixer, Tube mixer, 1.5 mL centrifugation tube, Beads washing buffer (see below).

Example of Beads washing buffer :

- TBS-T
- PBS-T

[Example of use]

Prewashing of magnetic beads

1. Suspend well this product by a vortex mixer.
2. Transfer 50 µL of beads suspension into a new 1.5 mL centrifugation tube.
3. Add the beads washing buffer over 1 mL into 1.5 mL centrifugation tube with 50 µL of beads suspension. Suspend well by a vortex mixer.
4. Place this tube on a magnetic separation stand for about 1 minute after spin down.
5. After confirming the separation of beads and solution, discard the supernatant.
6. Repeat steps 3 to 5 for proper times. [Prewashed magnetic beads].

- 1/6 -

Immobilization protocol

1. Add the biotinylated sample solution (protein, DNA, RNA and so on.) into the tube of [prewashed magnetic beads]. The liquid volume of this reaction is preferred over 200 µL of reaction solution (Adjust the liquid volume with PBS or TBS and so on.).
2. Incubate it with rotation by a rotator or a tube mixer for 1 hour at room temperature or over 4 hours at 4 °C.
3. Place this tube on a magnetic separation stand for about 1 minute after spin down.
4. After confirming the separation of beads and solution, discard the supernatant.
5. Add the beads washing buffer over 1mL into the tube. Suspend well by a vortex mixer.
6. Place this tube on a magnetic separation stand for about 1 minute after spin down.
7. After confirming the separation of beads and solution, discard the supernatant.
8. Repeat steps 5 to 7 for 3 times to wash the biotinylated sample bound beads. [Biotinylated sample bound beads]

Elution protocol

A. Competitive elution methods by biotin solution

1. Add the biotin solution* into the tube of [biotinylated sample bound beads].
2. Incubate it by a tube mixer for 30 minutes at room temperature or 4 °C.
3. Place this tube on a magnetic separation stand for 1 minute after spin down.
4. After confirming the separation of beads and solution, transfer the supernatant into a new 1.5 mL centrifugation tube using a micro pipette.

Caution : If the recovery amount was not enough, these elution steps would be required once again.

Store this recovered solution on the ice until next experiment. For long term storage, store at freezer.

* Biotin solution for competitive elution.

2 mmol/L Biotin Solution :

Reconstitute biotin in PBS to 2 mmol/L.

20 mmol/L Biotin Solution :

Reconstitute biotin in 50 mmol/L potassium phosphate buffer (pH 7.0) to 20 mmol/L.

B. Elution methods by SDS Sample Buffer (Elution under the denatured condition)

1. Add the 2 × SDS Sample Buffer** into the tube of [biotinylated sample bound beads]. Suspend well by a vortex mixer.
2. Incubate for 5 minutes at 95 °C.
3. Stand for 5 minutes at room temperature.
4. Place this tube on a magnetic separation stand for about 1 minute after spin down.
5. After confirming the separation of beads and solution, transfer the supernatant into a new 1.5 mL centrifugation tube using a micro pipette.

- 2/6 -

Caution : Store this recovered solution on the ice until next experiment. For long term storage, store at freezer.

※ 2 × SDS Sample Buffer :

0.125 mol/L Tris-HCl, pH 6.8, 4 w/v% SDS, 20 w/v% Glycerol, 10% 2-Mercaptoethanol or 100 mM/L DTT, 0.01% Bromophenol Blue.

[Storage]

Store at -20 °C.

[References]

- 1) Takakura, Y. et al., "Tamavidin 2-REV : An engineered tamavidin with reversible biotin-binding capability.", *J. Biotechnol.*, **164**(1), 19 (2013).
- 2) Ukekawa, R. et al., "A useful new tool for isolation of long non-coding RNA-binding proteins.", *Medical Science Digest*, **40**(7), 355(2014).

[License]

Tamavidin® is the registered trademark of Japan Tobacco Inc.. FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation has sold Tamavidin® under the sales license from Japan Tobacco Inc.

[Package]

2 mL

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshimachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : +81-6-6203-3741
Facsimile : +81-6-6201-5964
<http://www.wako-chem.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation
1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : +1-804-271-7677
Facsimile : +1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH
Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : +49-2131-311-0
Facsimile : +49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

コード No. 133-18611 (2 mL)

MagCapture™ HP Tamavidin® 2-REV

MagCapture™ HP タマビシン® 2-REV

本品はタマビシン® 2-REVを固定化させた磁気ビーズ（小粒子径タイプ）懸濁液です。MagCapture™ タマビシン® 2-REV（コードNo. 136-18341）より粒子径が小さい磁気ビーズを使用しているため、ビオチン標識物（タンパク質、DNA、RNAなど）の捕捉量を改善できます。

タマビシン® 2-REVは、キノコから単離された新規のアビシン様タンパク質であるタマビシン® 2を遺伝子改変した変異体で、過剰ビオチンによる競合溶出が可能です。ビオチン標識した核酸や化合物、抗体、酵素などの精製に使用できる便利なツールです。

[形 状]

10 mg/mL Tamavidin® 2-REV magnetic beads, 1 × TBS (pH 7.4), 50 w/v% glycerol, 0.05 w/v% sodium azide

[起源/タマビシン® 2-REV]

E. coli expressed Tamavidin® 2-REV

[試 験]

お客様の検体及び実験系ごとに使用条件を最適化して下さい。

[本品以外に準備する物]

磁気スタンド、遠心分離機、ローテーター（回転式攪拌機）、ボルテックスミキサー、チューブミキサー、1.5 mL容遠心チューブ、ビーズ洗浄バッファー（下記参照）。

ビーズ洗浄バッファー例

- TBS-T
- PBS-T など

[プロトコール例]

ビーズの洗浄

1. 本品をボルテックスミキサーで十分に懸濁する。
2. ビーズ懸濁液 50 μLを新しい1.5 mL容遠心チューブに移す。
3. ビーズ懸濁液が入った1.5 mL容遠心チューブにビーズ洗浄バッファーを1 mL以上加え、ボルテックスミキサーでよく混合する。
4. スピンドラウンし、磁気スタンドにセットして1分間静置する。
5. ビーズと上清が分離している事を確認後、上清を除去する。
6. 3～5を適宜繰り返す[洗浄済みビーズ]。

固定化プロトコール

1. **洗浄済みビーズ**にビオチン標識したサンプル溶液（タンパク質、DNA、RNAなど）を添加する。この時反応容量は200 μ L以上が望ましい（PBSやTBSなどの適したバッファーで調整する）。
2. ローテーターもしくはチューブミキサーなどで、室温で1時間または4℃で4時間以上攪拌する。
3. チューブを軽くスピンドウンし、磁気スタンドにセットして1分間静置する。
4. ビーズと上清が分離している事を確認後、上清を除去する。
5. ビーズ洗浄バッファーを1 mL以上加え、ボルテックスミキサーでよく混合する。
6. スピンドウンし、磁気スタンドにセットして1分間静置する。
7. ビーズと上清が分離している事を確認後、上清を除去する。
8. 5～7を3回繰り返してビオチン標識サンプル結合ビーズを洗浄する。**〔ビオチン標識サンプル結合ビーズ〕**

溶出プロトコル

A. ビオチン溶液による競合溶出法

1. **〔ビオチン標識サンプル結合ビーズ〕**にビオチン溶液※を添加する。
2. チューブミキサーなどで室温または4℃で30分間インキュベートする。
3. スピンドウンし、磁気スタンドにセットして1分間静置する。
4. ビーズと上清が分離している事を確認後、上清を新しい1.5 mL容遠心チューブに回収する。

注) 回収量が少ない場合は上記操作を再度行う。

回収した溶液は使用するまで氷上で保管する。ただし、長期保存する場合は冷凍で保管する。

※ ビオチン溶液

2 mmol/L ビオチン溶液：

ビオチンが2 mmol/LになるようPBSに溶解させる。

20 mmol/L ビオチン溶液：

ビオチンが20 mmol/Lになるよう50 mmol/Lりん酸カリウムバッファー（pH 7.0）に溶解させる。

B. SDS試料用バッファーによる溶出（変性条件下での溶出）

1. 2 × SDS試料用バッファー※を**〔ビオチン標識サンプル結合ビーズ〕**が入っている1.5 mL容遠心チューブに添加し、ボルテックスミキサーで混合する。
2. 95℃で5分間インキュベートする。
3. 室温で5分間静置する。
4. スピンドウンし、磁気スタンドにセットして1分間静置する。
5. ビーズと上清が分離している事を確認後、上清を新しい1.5 mL容遠心チューブに回収する。

注) 回収した溶液は使用するまで氷上で保管する。ただし、長期保存する場合は冷凍で保管する。

※ 2 × SDS試料用バッファー：

0.125 mol/L Tris-HCl, pH 6.8, 4w/v% SDS, 20w/v% Glycerol, 10% 2-Mercaptoethanol or 100 mM/L DTT, 0.01% Bromophenol Blue.

【保 存】 -20℃

【参考文献】

- 1) Takakura, Y. et al., "Tamavidin 2-REV : An engineered tamavidin with reversible biotin-binding capability.", *J. Biotechnol.*, **164**(1), 19 (2013).
- 2) Ukekawa, R. et al., "A useful new tool for isolation of long non-coding RNA-binding proteins.", *Medical Science Digest*, **40**(7), 355 (2014).

【ライセンスについて】

タマビシン®は日本たばこ産業株式会社の登録商標です。富士フィルム 和光純薬株式会社は、日本たばこ産業株式会社からライセンスを受けて販売しております。

【包 装】 2 mL

製造発売元

富士フィルム 和光純薬株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号

Tel : 06-6203-3741

1802KA1