

Proteus 1-Step Batch Mini Spin Columns プロトコール

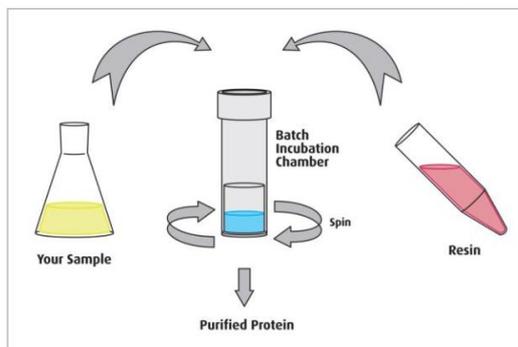
【キット内容】

- ・ Proteus 1-step カラム (600 μ L 容量: スウィングバケットローターの場合) (GEN-1SBM-50: 50 個, GEN-1SBM-100: 100 個)
- ・ 2.2 mL 遠心チューブ (GEN-1SBM-50: 100 個, GEN-1SBM-100: 200 個)

【必要な試薬・設備】

- ・ 0.2 μ m フィルターデバイス (Proteus mini clarification spin columns :GEN-MSF500 またはシリンジフィルターが推奨です)
- ・ 2.2 mL 遠心チューブ (直径 11 mm) を遠心可能な固定アングルローター遠心機
- ・ 各種バッファー (平衡バッファー、洗浄バッファー、溶出バッファー)
- ・ UV 吸光度測定用キュベット
- ・ UV/VIS スペクトロメーター
- ・ アフィニティーレジン

【サンプル精製模式図】



【推奨プロトコール】

はじめに：

以下に記載する遠心スピードと遠心時間はレジンベッドボリュームが約 100 μ L のものに最適化されています。それ以上のベッドボリュームの場合は、遠心時間を長くする必要がある可能性があります。

レジンの平衡化

1. 適切な量のレジンスラリーをスピncラムバレルのインキュベーションチャンバーに入れます。12,000-14,000 \times g で 20 秒遠心し、レジンスラリー中のエタノールを取り除きます。
Note：エタノールは Self Seal™メンブレンのシーリング特性を干渉します。
2. 600 μ L の平衡バッファーを加え、12,000-14,000 \times g で 20 秒遠心し、平衡化します。この

操作をもう 1 回繰り返して下さい。

Note: スピんカラム 1 つで精製を行う場合は、同じ重さのチューブでバランスをとって遠心してください。

サンプルの清澄化

3. 0.2 μm フィルター (Proteus Mini clarification spin column (Cat # GEN-MSF500) またはシリンジフィルターを使って、サンプルをフィルタリングします。

Note: 他のすべてのクロマトグラフィーと同様に、カラムにロードする直前に、0.2 μm フィルターにサンプルを通すことが重要です。

サンプルローディング

4. フィルターを通したサンプルをロードします。最大サンプルボリュームは 600 μL です。蓋を閉め、15 秒間ボルテックスし、サンプルとレジンをミックスします。続いてインキュベートしますが、スタートから 1 時間は、15 分に 1 回の間隔で 15 秒間のボルテックスをします。サンプルやレジンの種類によって、インキュベート時間を変更してください。1 時間以上インキュベーションする場合は、30 分から 60 分に 1 回、15 秒間のボルテックスを行ってください。
5. インキュベーションの後、カラムを 12,000–14,000 $\times g$ で 20 秒間遠心し、溶出液を集めます。

洗いのステップ

6. 600 μL 結合バッファーで非結合タンパク質を洗い、12,000–14,000 $\times g$ で 20 秒間遠心します。このステップを 1 回繰り返します。必要に応じて非結合タンパク質が十分に除去されているかどうか (吸光度 $A_{280} < 0.1$) 確かめて下さい。

精製サンプル

7. スピんカラムを新しい遠心チューブに入れ、50–600 μL の溶出バッファーでターゲットタンパク質を溶出させます。遠心条件は、12,000–14,000 $\times g$ で 20 秒です。溶出液はターゲットタンパク質が含まれているため、その後の用途に応じて保管してください。

ご不明の点は下記までお問合せ下さい。

株式会社エムエステクノシステムズ

●東日本 TEL (03)3235-0673 FAX (03)3235-0669

●西日本 TEL (06)6396-6616 FAX (06)6396-6644

e-mail: technosales@technosaurus.co.jp