

PROTEUS Protein G Mini Kit 簡易取扱説明書

サンプルキット内容(PC-MGK16)

- ・プレパックレジンプラグ(プロテイン G 結合アガロースビーズカラム) 16 個
- ・プレパックレジン用バレル(アングルローター使用で容量 0.65mL) 16 個
- ・2.2mL マイクロチューブ 32 個
- ・1x Binding Buffer(Buffer G) 250mL × 1 本
- ・1x Elution Buffer(Buffer B2) 125mL × 1 本
- ・Neutralization Buffer(Buffer C) 30mL × 1 本
- ・10kDa MWCO 限外濾過カラム 16 個
- ・プラグ挿入用器具 1 本
- ・取り扱い説明ハンドブック

保存

プレパックレジンプラグとバッファーは、冷蔵(2~8℃)で保存して下さい。

他の使用器具

- ・フィルターユニット: 0.2 μ m (25mm 直径) シリンジフィルター(サンプルの前処理に使用します。)
例) Millipore 社 0.2 μ m Steriflip GP unit(カタログ番号 SCGP 005 25)
- ・マイクロピペット
- ・2.2mL マイクロチューブに適合した遠心機

使用方法

1. レジンプラグの挿入

プレパックレジンプラグを、挿入用器具でバレルに押し込みます。英文の簡易取扱説明書に記載されている図をご参照下さい。

2. スピнкаラムの平衡化(合計遠心時間=2 分間)

0.65mL の Binding Buffer G を、1 の操作で組み立てたスピнкаラムに入れ、1,800 × g で 1 分間遠心します。

この平衡化の操作を、もう一回繰り返します。

3. サンプルの前処理

1mL のサンプルを、0.2 μ m シリンジフィルターに通し、細胞の残渣などを除去します。

ご注意※

腹水、血清、細胞培養上清では、保存や凍結・融解の繰り返しによるタンパク質の沈殿が起こります。あらゆるクロマトグラフィーにおいて、サンプルをカラムにローディングする直前に 0.2 μ m シリンジフィルターに通す操作が重要で

す。

4. サンプルローディング(合計遠心時間=6 分間)

サンプルを Binding Buffer G で 1:1 の割合で希釈します。(v/v; 例として、0.5mL のフィルター処理済みサンプルと 0.5mL の Binding Buffer G を混合する)

チューブの蓋を閉めて 3~4 回転倒混和します。希釈したサンプルを 0.65mL 取り、スピncラムにローディングします。スピncラムを $640 \times g$ で 6 分間遠心します。

ご注意※

スピncラム内にサンプルが残っている場合は、遠心時間または遠心力を増やして下さい。

5. カラムの洗浄(合計遠心時間=6 分間)

スピncラムに 0.65mL の Binding Buffer G を入れ、 $1,800 \times g$ で 2 分間遠心し、プラグに結合しなかった不要物を洗い流して除去します。この操作をあと 2 回繰り返します。

6. 新しいマイクロチューブに 65 μ L の Neutralization Buffer C を入れておき、そこにスピncラムを重ねます。スピncラムに 0.5mL の Elution Buffer B2 を入れ、 $1,800 \times g$ で 2 分間遠心して IgG を溶出します。チューブを回して溶出液と Neutralization Buffer C を完全に混合します。この 6 の操作をもう一回繰り返します。

※ご注意

精製抗体を濃縮して回収したい場合、2 回分の溶出画分を合わせないでください。

7. 精製抗体の脱塩と濃縮

必要に応じて、10kDa MWCO 限外濾過カラムで抗体の脱塩と濃縮を行います。抗体を $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存する場合は、 $0.05\sim 0.2\%$ (w/v)のアジ化ナトリウムを加えて下さい。長期保存には、 $10\sim 50\%$ のグリセロールを加え、少量ずつに分注して -20°C で凍結保存することをお勧めします。

8. プロテイン G ミニプラグの再生

スピncラムに 0.65mL の Elution Buffer B2 を加え、 $1,800 \times g$ で 2 分間遠心してミニプラグを洗浄します(洗浄は 2 回行います)。続いて、スピncラムに 0.65mL の Binding Buffer G を加え、同様の遠心操作を 2 回繰り返します。

すぐに次の精製を行う場合は、再び手順 1 から操作を進めて下さい。

また、再生したプラグは保存することもできます。エンドキャップを外したままで、 0.1% アジ化ナトリウム溶液(超純水で調製)に浸し、次の使用まで $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存して下さい。

Note: 2025 年 12 月より、本キットのバッファーにはアジ化ナトリウムが含まれなくなりました。機能・性能への影響はございません。