

実験プロトコール 106

- 12) タンパク質固定化ビーズ洗浄・保存バッファー 500 μ Lを添加し、ビーズを分散させる。
- 13) 15,000 rpm、4°Cで5分間遠心分離を行い、上清を廃棄する。
- 14) 12~13を更に2回繰り返す。(ビーズの洗浄を計3回行う)
- 15) タンパク質固定化ビーズ洗浄・保存バッファー 200 μ Lに分散させ、4°Cにて保存する。
(抗体固定化ビーズ濃度:0.1 mg/20 μ L)

3. 補足

- ・ ビーズの分散は超音波分散装置で容易に分散できるが、それらが無い場合は、超音波洗浄器や試験管立てを使用したガリガリ法でも分散可能。(ガリガリ法では、チューブの蓋が開かないようにキャップロックを用いることが望ましい。)

(FGビーズのホームページ: <http://www.magneticnanoparticle.jp/jp/htdocs/technique/affinity.html> に動画あり)



- ・ 抗体またはタンパク質固定化後のビーズの分散はガリガリ法にて行う。もし、分散しにくいようなら氷冷した超音波ホモジナイザー、超音波洗浄器で短時間で分散させる。
- ・ ビーズの回収は、磁気分離ではなく、遠心分離にて行う。
- ・ 抗体及びタンパク質固定化量は、回収した上清のタンパク質量(Bladford法またはSDS-PAGE)やタンパク質固定化ビーズから直接的にBCA法により算出可能。
- ・ 抗体及びタンパク質の固定化量を増やしたい場合は抗体及びタンパク質の仕込み量を増加させる。
- ・ 固定化するタンパク質溶液中にTrisやBSAが入っている場合はビーズへ固定化されてしまうので固定化反応前に除く。

以上