

(90×210mm Size)

FUJIFILM

Wako

コード No. 146-09731 (1本(5 mL))
142-09733 (1本(5 mL)×5)

遺伝子研究用 Ni-NTA カートリッジ

Ni-NTAアガロースは、6×ヒスチジン融合タンパク質をアフィニティー精製するために使用されます。本品は、Ni-NTAアガロースをカラムへ詰めたプレパック品であり、液体クロマトグラフィーシステムに使用できます。

〔ゲルマトリックス〕	6%架橋アガロース
〔リガンド〕	ニトリロ三酢酸 (NTA)
〔タンパク質結合容量〕	> 50 mg/mL gel*
〔ビーズサイズ〕	50~170 μm
〔保存液〕	30%エタノール
〔推奨流速〕	5 mL/min

* タンパク質結合容量は目的タンパク質ごとに異なります。

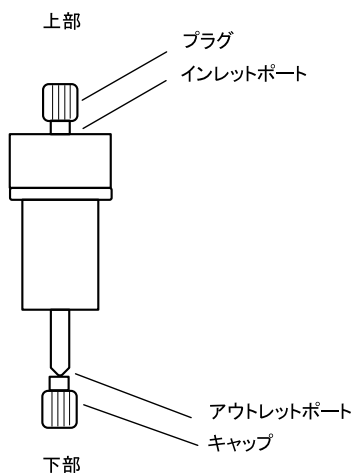
〔カートリッジ〕

内径 1.6 cm

高さ 2.5 cm

インレットポート 10-32 (1/16") メスネジ

アウトレットポート 10-32 (1/16") オスネジ



〔推奨バッファー〕

非変性条件下：

- ・平衡化バッファー：
50 mmol/L Sodium Phosphate,
300 mmol/L Sodium Chloride, 10 mmol/L Imidazole, pH 8.0
- ・洗浄バッファー：
50 mmol/L Sodium Phosphate,
300 mmol/L Sodium Chloride, 20 mmol/L Imidazole, pH 8.0
- ・溶出バッファー：
50 mmol/L Sodium Phosphate,
300 mmol/L Sodium Chloride, 250 mmol/L Imidazole, pH 8.0

変性条件下：

- ・平衡化バッファー：
50 mmol/L Sodium Phosphate,
300 mmol/L Sodium Chloride, 10 mmol/L Imidazole, pH 8.0
- ・洗浄バッファー：
50 mmol/L Sodium Phosphate, 300 mmol/L Sodium Chloride,
20 mmol/L Imidazole, 8 mol/L Urea, pH 8.0
- ・溶出バッファー：
50 mmol/L Sodium Phosphate, 300 mmol/L Sodium Chloride,
250 mmol/L Imidazole, 8 mol/L Urea, pH 8.0

〔プロトコール〕

1. 液体クロマトグラフィーシステムを用いたタンパク質の精製

1-A 液体クロマトグラフィーシステムへの接続

- 1) 平衡化バッファーでポンプのバージ (エア抜き) を行い、すべてのエアを除く。
- 2) 上部のプラグをカートリッジからとる。
- 3) 液体クロマトグラフィーシステムの送液を開始する。
- 4) 気泡が入るのを防ぐために、インレットポートとシステムのコネクター接続部分を平衡化バッファーで満たし、接続する。
- 5) カートリッジ下部のアウトレットポートの先を折り、システムのコネクターと接続する。必要であれば、先端のキャップは保管する。

1-B 平衡化

- 1) 平衡化バッファー 5~10 CV (Column Volume) でカートリッジを平衡化する。

1-C サンプル添加

- 1) 6×ヒスチジン融合タンパク質を含んだサンプルをフィルターまたは遠心分離にかける。
- 2) サンプルをカートリッジへ添加する。

1-D 洗 浄

- 1) O.D 280 nmが安定するまで、洗浄バッファーでカートリッジを洗浄する。

1-E 溶 出

- 1) 溶出バッファー 5～10 CV (Column Volume) で6×ヒスチジン融合タンパク質を溶出する。
- 2) フラクシオンを回収し、溶出したタンパク質を氷上で保存する。

1-F 保 管

- 1) 30%エタノール 25 mL以上でカートリッジを洗浄する。
- 2) 2～10℃で保管する。

2. レジンの洗浄・再生

夾雑タンパク質がレジンと結合し、結合部位が減少することで、結合容量が減少する可能性があります。レジンを初期の状態に戻すために、レジンの洗浄または再生作業が必要な場合があります。

2-A レジンの洗浄

同じ融合タンパク質を精製するときは、レジンの洗浄をおすすめします。水酸化ナトリウムは、非特異的な結合タンパク質、凝集タンパク質、リボタンパク質のような夾雑タンパク質をレジンから解離させます。

- 1) 0.5 mmol/L水酸化ナトリウムで30分間レジンを洗浄する。
- 2) 超純水 10 CV (Column Volume) で洗浄し、水酸化ナトリウムを除く。
- 3) 平衡化バッファー 10 CV (Column Volume) で洗浄する。
- 4) 30%エタノール 2 CV (Column Volume) で洗浄する。
- 5) 30%エタノールを加え、2～10℃で保存する。

2-B レジンの再生

レジンと結合しているタンパク質を完全に取り除きます。一般的に、レジンの再生作業は、精製するタンパク質を変更する場合に必要です。同じタンパク質を続けて精製する場合でも、収量が明らかに減少しているときは、レジンの再生を行うことをおすすめします。これらの手順は、使用タンパク質や使用環境によって異なります。

- 1) 超純水 10 CV (Column Volume) で洗浄する。
- 2) 100 mmol/L EDTA, pH 8.0 10 CV (Column Volume) で洗浄し、レジンから金属を除く。
- 3) EDTAを除去するために、カートリッジを超純水 10 CV (Column Volume) で洗浄する。

- 4) 100 mmol/L 金属イオン水溶液 (通常は塩化物、硫酸塩を用いる) 2 CV (Column Volume) 加える。
- 5) 超純水 10 CV (Column Volume) で洗浄する。
- 6) 平衡化バッファー 10 CV (Column Volume) を加え、平衡化する。
- 7) 30%エタノール 2 CV (Column Volume) で洗浄する。
- 8) 30%エタノールを加え、2～10℃で保存する。

〔安定性〕

本製品は下記溶液の記載濃度までは安定性かつ耐性があります。

還元剤	30 mmol/L Reduced glutathione
	20 mmol/L β -Mercaptoethanol
	10 mmol/L DTT
	10 mmol/L DTE
	0.3% SDS
変性剤	8 mol/L Urea
	6 mol/L Guanidine Hydrochloride
界面活性剤	2% Triton [®] X-100
	2% Tween [®] 20
他添加剤	50% Glycerol
	1 mmol/L EDTA
	20% Ethanol

Triton は Dow Chemical Company の登録商標です。
Tween は ICI Americas, Inc. の登録商標です。

〔貯 法〕

2～10℃

〔包 装〕

コード No.	容 量
146-09731	1 本 (5 mL)
142-09733	1 本 (5 mL) × 5

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社
大阪府中央区道修町三丁目1番2号
Tel : 06-6203-3741

1801KA1