

AMR プロテインユニバーサルキット よくある質問

Q NV10 の飽和濃度はどのくらいですか？

A NV10 は任意の水性緩衝液で 50mg/ml まで溶かすことができます。しかし NV10 が高濃度の溶液の場合、結晶が生じやすくなります。

Q NV10 の pH 範囲はどのくらいですか？

A NV10 の可溶化は pH に依存しません。pH 3-11 の水性緩衝液に可溶化が可能です。

Q 可溶化した NV10 は保存できますか？

A a. 水性緩衝液で可溶化した NV10 は徐々に結晶化します。懸濁状態へ変化します。1mg/ml NV10 溶液は 4℃で 1 週間は安定であることが分かっています。高濃度溶液になるほど、結晶化が速まります。NV10 の結晶化は NV10 溶液のみの場合で起こります。また、懸濁状態であっても NV10 の機能は失われません。

b. 水性緩衝液で可溶化した NV10 は、タンパク質の安定化に使用可能です。短期間 (1-7 日) であれば 4℃、長期間 (6-12 か月) の場合は凍結保存 (-20℃、-80℃) して下さい。

Q 各種タンパク質分析の前に NV10 を除去する必要がありますか？

A NV10 1mg/ml 溶液は多くの分析方法に適用可能です。

Protein Concentration

| | |
|-----------------|-----|
| BCA Assay | ✓✓✓ |
| Bradford Assay* | ✓✓ |
| UV spectroscopy | ✓✓✓ |

Protein Structure

| | |
|---------------------|-----|
| Biacore | ✓✓ |
| Circular Dichroism | ✓✓✓ |
| Crystallography | ✓✓ |
| Electrophoresis | ✓✓✓ |
| Mass Spectrometry** | ✓✓✓ |
| NMR | ✓✓ |

Column Chromatography

| | |
|-------------------|-----|
| IMAC | ✓✓✓ |
| Ion Exchange | ✓✓✓ |
| Reversed Phase*** | ✓✓ |

Protein Activity

| | |
|-------------------|-----|
| Cell Based Assays | ✓✓✓ |
| ELISA Assays | ✓✓✓ |
| FRET Assays | ✓✓✓ |

* NV10 を含む Blank を使用して下さい。NV10 は Bradford 試薬と弱く反応するためです。0.25mg/ml 以下の低濃度での感度低下が見られます。

BradfordULTRA assay は高感度、バックグラウンドの干渉が少ない製品です。

** C4 zip tip での精製をお勧めします。

*** ガードカラムの使用をお勧めします。

ゲル電気泳動、Bradford および ELISA では、より正確な結果を得るために精製作業を行うことをお勧めします。

Q サンプル溶液から NV10 を除く方法はありますか？

A 精製方法は、イオン交換クロマトグラフィー、または His-tag を持つタンパク質には IMAC をお勧めします。疎水性相互作用クロマトグラフィー (HIC) を 2 次精製に使用すると、NV10 をさらに除去することが出来ます。

Q レジンへの保持が弱いサンプルを保持させるにはどうすれば良いですか？

A a. レジンへの保持を強くするためにリリース溶媒を添加することが出来ます。しかし、リリース溶媒の添加によりタンパク質の安定性が弱まり、サンプルロスを招く可能性があります。

b. 実際のタンパク質特性が理論的な特性とは異なる場合があります。より適切な保持条件を見つけるためにイオン交換レジン、バッファー、pH を検討して下さい。

Q NV10 を除去するために、膜、脱塩カラム、分子ふるいクロマトグラフィーを使用できますか？

A a. いいえ。NV10 は大きな流体力学半径を持つため、サイズに基づいた分離では一緒に溶出されてしまいます。

b. サイズに基づいた分離を可能にするために、リリース溶媒を添加し NV10 とサンプル間の相互作用を弱めることも可能です。しかしタンパク質の安定化も弱まり、サンプルロスにつながる可能性があります。