

実験プロトコール 110

- 7) 上清を廃棄したビーズの入っている1.5 mLマイクロチューブへ抗体結合バッファーを100 μ Lずつ添加し、ガリガリ法にて分散させる。その後、工程2)で調製した抗体溶液100 μ Lを添加する。
- 8) 室温で30分反応させる (マイクロチューブミキサー)。
- 9) 30分後、スピンドウンし、室温で磁気分離を行い、上清を廃棄する。(定量する場合は保存しておく。)
- 10) 洗浄・保存バッファーを500 μ L加え、ビーズを分散させる。
- 11) スピンドウン後、磁気分離を行い、上清を廃棄する。
- 12) 工程10)~11)を更に2回繰り返す。(バッファーによるビーズの洗浄を計3回行う)
- 13) 洗浄・保存バッファー200 μ Lを加えてガリガリ法で分散後、4°C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ブ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://fgb.tamagawa-seiki.com/technique/affinity.html> に動画あり)



- ・抗体固定化量は、回収した上清のタンパク質量 (Bradford法またはSDS-PAGE) より算出可能。
- ・固定化量を増やしたい場合は仕込み量または濃度を増加させる。

以上