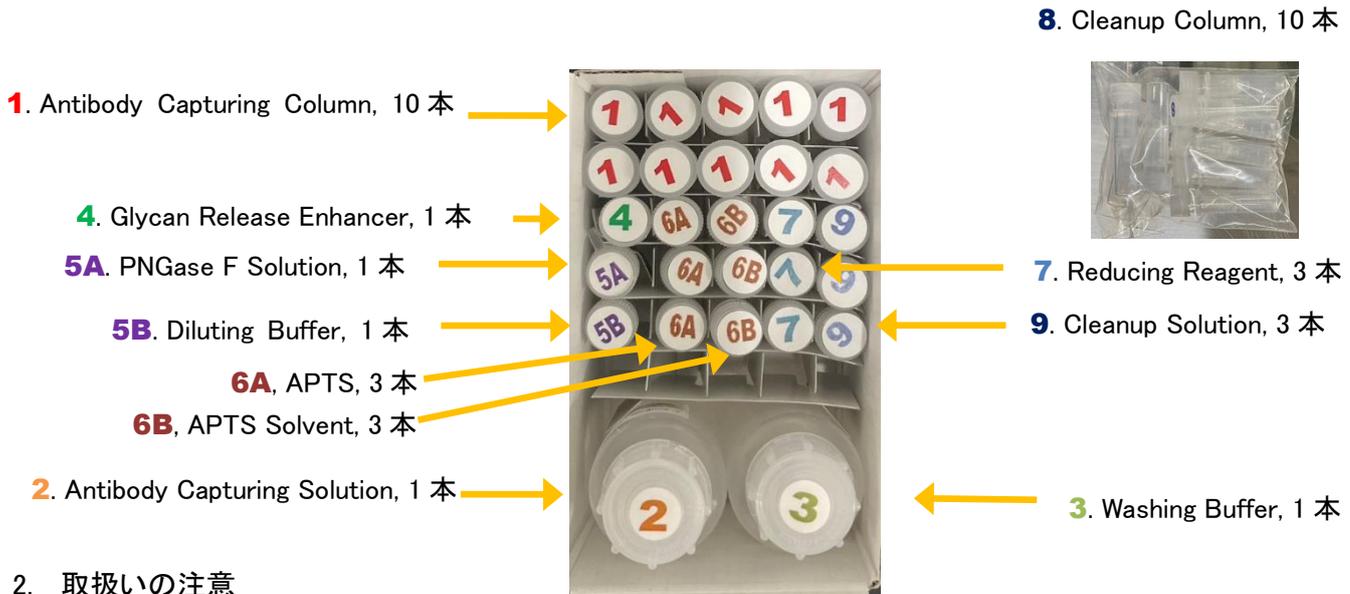


EZGlyco[®] mAb-N Kit with APTS

本製品は培養液中の抗体の、抗体精製から標識糖鎖サンプルの調製まで約4時間でできる簡便・迅速なキットです

1. 最初にご確認ください

- ・キットを開封されましたら下記のカラム、溶液、試薬類の種類、数量に間違いがないことをお確かめ下さい
- ・**5A**の試薬は、遠心操作によって内容物をチューブ底部に集めたのちにお使いください



2. 取扱いの注意

- ・カラムを落としたり、ぶつけたりしないでください
- ・キットは冷蔵保存(2℃~8℃)して下さい

安全に関する情報

- ・本製品は研究目的のみに使用してください
- ・地域の条例に従った廃液処理を行って下さい
- ・化学物質等を扱うときの一般的な装備服装をしてください
- ・手袋、保護用メガネ等により適切な身体保護を施し、試薬類の直接身体への接触を避けてください
- ・試薬が目に入った場合は、直ちに水で洗い流し直ちに医師の診断を受けてください
- ・試薬が皮膚に付着した場合、直ちに水で洗い流してください
- ・口に入った場合は、すぐに吐き出し口をすすいで、直ちに医師の診断を受けてください
- ・試薬類を飲み込んだ場合、応急処置として水を飲ませ直ちに医師の診断を受けてください
- ・使用期限と保存条件を必ず守ってください
- ・本製品構成以外の試薬の取り扱いについては、各々の試薬の取り扱いに準拠してください
- ・使用する機器類の取り扱いについては、各種機器類の取扱説明書に従ってください

3. 本製品に関するお問合せ: E-mail: s-bio@sumibe.co.jp, TEL: 03-5462-4831, Fax: 03-5462-4835

4. お客様にご用意頂く試薬、器具類

推奨試薬類

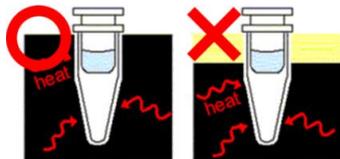
- ・アセトニトリル (推奨: 富士フイルム和光純薬株式会社、019-08631)
- ・メタノール (推奨: 富士フイルム和光純薬株式会社、136-09475)
- ・エタノール (推奨: 富士フイルム和光純薬株式会社、056-03341)

器具類

- ・2.0 mL、1.5 mL チューブ
- ・ピペッター(1~1000 μL)、チップ
- ・ヒートブロック(50°C)、1.5 mL のチューブが入るもの
- ・ボルテックスミキサー
- ・遠心機(500×G、3000×G で使用)

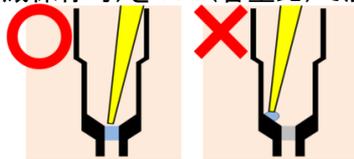
5. 操作プロトコル

- **1** のカラムを取り出し、先端のキャップと上蓋を外し、2.0 mL のチューブに挿し、遠心(500×G、約 3 分)
(以降、遠心する毎にカラム内の液がすべて下のチューブに落ちていることを確認し、カラムの先端が溜まった液に触れる前に適宜廃棄して下さい)
- **2** の溶液 600 μL を **1** のカラムに加え、遠心(500×G、約 3 分)
 - ヒートブロックのスイッチを入れ、50°C に設定する
- アプライされる抗体量が 10~40 $\mu\text{g}/600 \mu\text{L}$ になるように **2** の溶液で希釈した抗体含有液を **1** のカラムに加え、遠心(500×G、約 3 分)
- **3** の溶液 600 μL を **1** のカラムに加え、遠心(500×G、約 3 分)
- 100 μL の溶液 **4** (**4** の試薬に 1200 μL の純水を入れ溶解した液:密栓して冷蔵保存可)を **1** のカラムに加え、遠心(3000×G、約 1 分)
- **1** のカラムを新しい 1.5 mL チューブに挿し、加熱(50°C、30 分)(蓋はしないで下さい)



チューブが深く挿入できないヒートブロックは使用しないで下さい

- 加熱した **1** のカラムの担体に、**5A** と **5B** の溶液(**5B** の試薬に 600 μL の純水を入れ溶解した液:密栓して冷蔵保存可)を 1:1 (容量比) で混合した液(3 μL)を染み込ませ、加熱(50°C、30 分)(蓋はしないで下さい)



液は担体に直接染み込むように加えてください。×で示すように担体に染み込まない位置に液を置かないよう注意して下さい

- 待ち時間に **6A** の試薬全量に、120 μL の溶液 **6B** (**6B** の試薬に 1000 μL の純水を入れ溶解した液)を加えボルテックスし、標識溶液 **6** を調製する(10 回分の場合)
 - (1 回分ずつ使用したい場合は **6A** の試薬 1.3 mg に 10 μL の溶液 **6B** を加えボルテックスし使用して下さい)
- **7** の試薬全量に、800 μL のメタノールを加えボルテックスし、還元溶液 **7** を調製する(10 回分の場合)
 - (必ず使用直前に調製して下さい、1 回分ずつ使用したい場合は **7** の試薬 4 mg に 75 μL のメタノールを加えボルテックスし使用して下さい)
- **1** のカラムに、調製した標識溶液 **6** を 10 μL 加え、遠心(3000×G、約 1 分)し、1.5 mL チューブ内の溶液はそのままに、さらに **1** のカラムに調製した還元溶液 **7** を 10 μL 加え、遠心(3000×G、約 1 分)
 - (測り取る前に標識溶液を数回ピペティングしてから、標識溶液を測り取ってください)
- **1** のカラムを外し、チューブに回収された液を軽くボルテックスして攪拌し、遠心により溶液をチューブの底に集め、加熱(50°C、2 時間)(蓋はしないで下さい)
 - 待ち時間に **8** のカラムに純水 200 μL を加え、遠心(3000×G、約 30 秒)。アセトニトリル 200 μL を加え、遠心(3000×G、約 30 秒)。再度アセトニトリル 200 μL を加え、遠心(3000×G、約 30 秒)。溜まった液は廃棄する
- **9** の試薬全量に 1200 μL の純水を加えボルテックスし、溶液 **9** を調製する。
- 加熱後の液に 60 μL の溶液 **9** を加え、ボルテックスして攪拌し、遠心により溶液をチューブの底に集める。さらにアセトニトリルを 600 μL 加え数回ピペティングしてから、洗浄した **8** のカラムに全量加え、遠心(500×G、約 1 分)
 - (必ずカラムに添加する直前にアセトニトリルを混合し、即座に **8** のカラムに加えてください。
アセトニトリル混合後析出物が生じますが、析出物ごと **8** のカラムに加えてください。)
- **8** のカラムに 50%アセトニトリル/40%エタノール/10%純水混合溶液 600 μL を加え、遠心(500×G、約 1 分)
- 再度 **8** のカラムに 50%アセトニトリル/40%エタノール/10%純水混合溶液 600 μL を加え、遠心(3000×G、約 1 分)
- **8** のカラムを新しい 1.5 mL チューブに挿し、純水 100 μL を **8** のカラムに加え、遠心(3000×G、約 1 分)
- 回収した液(標識糖鎖)を CE で分析

(Ver.240919)