

LECTIN & GLYCOANALYSIS NEWS

レクチンアガロース

使用方法

<レクチンアガロース使用方法>

基本的な操作は、一般のアガロースゲルと変わりありません。
ただし、リガンドが生理活性タンパク質である点に注意が必要です。

●使用上の注意

1. pH : pH5~pH8 で使用可能 (ただし、使用後は pH7~8 にもどす)
2. 温度 : 4°C~室温 (低温の方がレクチンの親和性が高くなる傾向がある)
3. 有機溶媒 : 使用不可
4. 界面活性剤 : 種類や濃度によりレクチンに及ぼす影響が異なる (使用後は界面活性剤を除いた緩衝液で洗浄)
5. その他 : マグネチックスターラーによる攪拌, ゲルの凍結はアガロースゲルを破損するので不可

●使用手順

1. 洗浄 (保存用緩衝液中の糖および防腐剤の除去)
桐山ロート、ガラスろ過器などを使用し、ゲル量の 5~10 倍の純水で洗浄する。
2. バッファー交換
ゲル量の約 5 倍の初期緩衝液で洗浄後、初期緩衝液に懸濁する。
3. 脱気
吸引などで脱気する。煮沸は厳禁です。
4. カラムパッキング
脱気したゲルを静かに懸濁し、カラムに流し入れる。線流速 10cm/hr
5. コンディショニング
ゲル量の 5 倍以上の初期緩衝液を流す。線流速 2~10cm/hr
6. サンプルアプライ
サンプルは、あらかじめ濾過などをおこない、沈澱を除去しておく。
7. 洗浄
ベースラインが安定するまで初期緩衝液を流す。→非吸着画分
8. 溶出
溶出液 (ハプテン糖や酸などを含む溶液) を用いて溶出する。
溶出は、ステップワイズグラジエント, リニアグラジエントなどでおこなう。
9. 洗浄
0.5M NaCl を含む緩衝液などを流し、ゲルと非特異に結合している物質を除く。
続けて使用する場合には、2.バッファー交換 あるいは 5.コンディショニング からおこなう。
10. 保存
防腐剤 (0.02% NaN₃) を含む緩衝液に懸濁し、4°C保存

◎UVモニター、レコーダーと接続することにより、正確に各ピークを分取することも可能です。ただし、ポンプを使用した場合、液面がトップディスクでは止まらないので注意してください。また、ポンプを使用してしばらくすると、ゲルベットの高さが変わることがあります。流速は 10cm/hr 以下が適当です。

溶出液

溶出に使用する糖（ハプテン糖）は、レクチンの特異性により異なります。レクチンによっては、ハプテン糖が非常に高価であったり、手に入りにくいなどの理由で実際に使用することが難しいものもあります。

レクチン	溶出用糖など	濃度 など
SSA	Lactose	0.2M
WGA	N-Acetyl-D-glucosamine 酸	0.2M pH5