



Application

## MPCポリマーコーティングを用いた 限外ろ過回収チューブのタンパク質低吸着性化

製品名

FastGene™ <sup>ノヴィコート</sup>NovyCoat (FG-NVC100)

メーカー名

日本ジェネティクス株式会社

下記データは、国内のお客様のご厚意により掲載させていただきました。

### はじめに：日本ジェネティクス株式会社からのコメント

本アプリケーションノートで使用されたコーティング剤NovyCoatは、本来はエクソソームの吸着抑制を主目的として開発された「親水性のホスホリルコリン基を有するMPCポリマー」コーティング剤です。

本アプリケーションノートでは、NovyCoatをチューブのコーティングに用いたところ、タンパク質の回収率が改善された事例をご紹介します。

### MPCポリマー含有コーティング試薬 FastGene™ NovyCoat (FG-NVC100)

● 特徴

お手持ちのチューブにコーティングするだけで、エクソソームや細胞外分泌小胞の吸着を抑制します。

● 適応素材

樹脂（ポリスチレンPS、ポリプロピレンPP、ポリエチレンテレフタレートPET）

金属（SUS、Ti）

※ポリテトラフルオロエチレン PTFEにはお使いいただけません。



### NovyCoatを使用した背景：お客様からのコメント

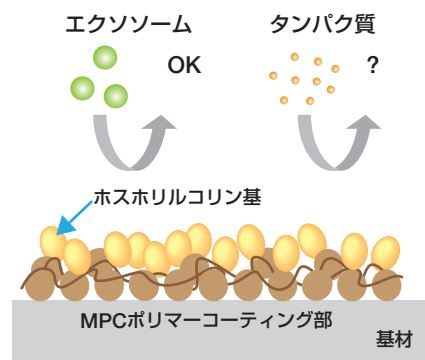
これまで、チューブタイプの限外ろ過膜を用いてタンパク質の精製を行うために、BSA（目的のタンパク質と同程度のサイズ）を用いて予備テストを行ってきました。そこで、限外ろ過膜通過後にろ過液内にあるはずのBSAが専用の回収チューブに吸着し、回収率が落ちてしまうという問題に直面しました。

回収チューブをかなり強くボルテックスすることで吸着したBSAを回収できたのですが、ボルテックスによるタンパク質へのダメージを考え、吸着抑制コーティングによる対処が最善の選択だと思われました。しかしながら、数回で止めるかもしれない予備実験のために、既製品の高価なタンパク質の吸着抑制用コーティングチューブの購入は難しい状況でした。

そこで、以前エクソソームの回収を行っていた際に知った、エクソソーム吸着抑制に用いられるFastGene™ NovyCoatが、低濃度のタンパク質回収する際にも応用できないかと考え\*、今回、試しに限外ろ過の回収チューブにコーティングを実施してみました。

なお、本アプリケーションノートで用いた0.08 mg/mLは、事前にBSAが限外ろ過膜を効率よく透過できる最適濃度を検討し、決定した最適濃度で行いました。

\* NovyCoatの主成分MPCポリマーはタンパク吸着を抑制するという報告があります (Ishihara *et al.*, 1998, J BIOMED MATER RES)。



## 方法

### ● コーティング

チューブタイプ限外ろ過後の回収チューブ：Amicon Ultra 100 K (UFC510024) に NovyCoat 0.5 mL 加え、パラフィルムで蓋をし封入。

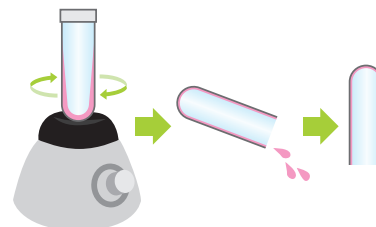
↓  
ボルテックスミキサーで攪拌し、コーティングしたい高さまで NovyCoat が上昇するように回転数を調整した。

↓  
その状態で約 5 秒攪拌を続け、一旦攪拌を中止した。

↓  
再び約 5 秒間攪拌した。

↓  
NovyCoat を全量廃棄した。

↓  
NovyCoat を廃棄後、容器を上下逆さにした状態で、チューブラックに一晩静置して乾燥させた。



### ● タンパク質回収

BSA 水溶液 (0.08 mg/mL, 溶媒：超純水) 300  $\mu$ L を限外ろ過膜に与え遠心した。

遠心条件：14,000 x g, 4°C

遠心時間：① 5 min、② 10 min、③ 20 min、④ 30 min

↓  
回収したろ液を A280 OD 測定 (Nano Drop) で測定し、タンパク質濃度を定量した。

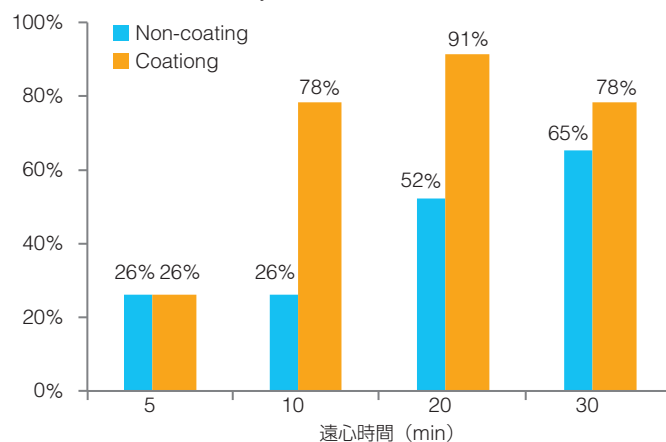
↓  
遠心前の BSA 濃度と、遠心後に回収された BSA 濃度を比較した。

## 結果

NovyCoat 使用時に回収される BSA 濃度 (mg/mL)

	Input	遠心時間 (min)			
		5	10	20	30
Non-coating	0.08	0.02	0.02	0.04	0.05
Coating	0.08	0.02	0.06	0.07	0.06

NovyCoat 使用時の BSA 回収率



### ● 結論

NovyCoat の使用により、限外ろ過後の BSA タンパクの回収率を上げることができた。

NovyCoat によって、BSA のチューブへの吸着を大幅に抑えることができました。

回収タンパク質の酵素活性を見るのが目的の実験のプレ実験でしたが、回収のためにボルテックスやピペティングなどのタンパク質に影響を与えるような操作を試みる必要がなく、酵素活性へのダメージを極力抑えることができそうです。

また、自分が使いたいチューブに簡単に低吸着コーティングができて、使い勝手がよかったです。今回はプレ実験だったので、数回で止めるかもしれない実験のために既製品の高いコーティングチューブを購入するのは少し抵抗がありました。NovyCoat を使うとチューブを追加購入する必要がなく、使う分だけコーティングチューブが作れたので助かりました。チューブの種類をいろいろ変えて検討したい時にも使えるのではないかと思います。



お客様のコメント