

MARS spin cartridge

2015. 8.

경희대학교 김광표

■ Dilution

sample 의 volume 이 200 μ l 가 되도록 dilution 해야 한다.

1. 0.22 μ m membrane filter (5185-5990, Agilent Technologies) 위에 sample+MARS buffer A (5185-5987, Agilent Technologies) 의 volume 이 200 μ l 가 되도록 pipetting 한다.
2. filter 를 rack 에 꽂고 vortexing mixer 에 고정하여 약하게 1-2 분 vortexing.

■ Filtration

Debris 를 제거하는 과정이다.

1. Centrifugation : 16,000 x g, 1.5 min, 4 °C
- * 3초 경과 후 filter에 구멍이 있는지 확인한다.

■ Washing

high-abundant protein 을 제거하는 buffer B (5185-5988, Agilent Technologies)를 흘려주어 washing.

1. cartridge 에 syringe 를 연결하고, MARS buffer B 를 2 ml 넣는다.
2. 3~5초에 한 방울이 떨어질 정도의 속도로 buffer를 내린다.

■ Equilibrium

Cartridge equilibrium.

1. cartridge 에 syringe 를 연결하고, MARS buffer A 를 4 ml 넣는다.
2. 3~초에 한 방울이 떨어질 정도의 속도로 buffer 를 내린다.
3. 2회 반복한다.

■ Sample loading

1. cartridge 를 2 ml tube 에 끼운다.
2. sample을 cartridge에 넣고, centrifugation : 100 x g, 1.5 min, 4 °C.

■ Elution

1. filtration 과정에서 sample 을 받았던 tube 에 MARS buffer A 를 200 μ l 넣고, vortexing, spindown 잠시 한다.
2. 위의 200 μ l 를 cartridge 에 넣고, centrifugation : 100 x g, 2.5 min, 4 °C
3. 2회 반복한다.

* low-abundant protein flow-through가 total 600 μ l가 된다.

■ Washing

1. cartridge 를 다른 2 ml tube 에 끼운다.
- * 이렇게 다른 tube 에 high-abundant protein 을 따로 받기도 한다.
2. cartridge 에 syringe 를 연결하고, MARS buffer B 를 2 ml 넣는다.
 3. 3~5초에 한 방울이 떨어질 정도의 속도로 buffer를 내린다.

■ Re-equilibrium

Cartridge re-equilibrium.

1. cartridge 에 syringe 를 연결하고, MARS buffer A 를 4 ml 넣는다.
2. 3~5초에 한 방울이 떨어질 정도의 속도로 buffer를 내린다.

※ 보관 시

cartridge에 MARS buffer A를 200 μ l정도 채운 뒤 4 °C에서 보관

※ 준비물

- 0.22 μ m membrane filter (5185-5990, Agilent Technologies)
- MARS buffer A (5185-5987, Agilent Technologies)
- MARS buffer B (5185-5988, Agilent Technologies)
- Multiple Affinity Removal System Spin Cartridge, Human
- Albumin/IgG, 0.45 ml (5188-8825, Agilent Technologies)