

# User guide

## NTA modified Sensor chips & His-tag capture Kit



## 관련 제품 목록들

### Sensor chip lists

목록	용량/pkg	제품번호	권장 분석물질 및 보관
NTA-Au chip	10	PCNT1000	Proteins, Vesicles, Nano-particles, Cells, Peptides, Oligomers 냉장 보관
N-Dex100	3	DCNT1100	Proteins, Peptides, Oligomers 냉동 보관
NiHC1000	3	HCNT101KX	Small molecules 냉동 보관

### Buffers & Reagents

목록	용량/pkg	제품번호	용도
HBST buffer (10x)	50ml	RBHT1010-50	운용 버퍼, 평형, washing, dissociation
His-tag capture kit	100 tests	IMHT1000	리간드 (단백질) 고정화

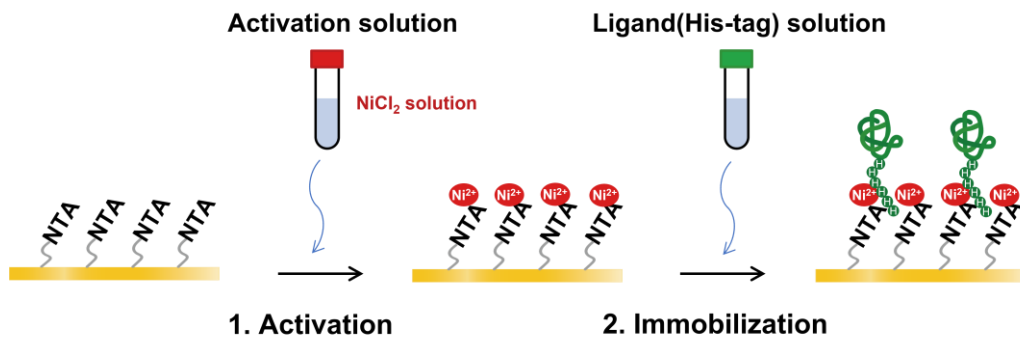
Note: 연구 목적으로만 사용해주세요.

# Histag-Protein capture

재조합 단백질은 많은 경우 his-tag을 보유하고 있습니다. 단백질이 amine coupling 방법으로 잘 고정화 되지 않거나 결합신호가 약하다면 NTA 센서 칩에 his-tag 부위를 비공유 결합으로 고정시키는 방법을 선택할 수 있습니다. 이 방법은 regeneration 단계에서 리간드 단백질까지 탈착되기 때문에 리간드 단백질이 다양한 경우 사용하면 좋습니다. 같은 이유로 kinetics evaluation을 할 때는 single cycle kinetics 방법을 권장합니다.

NTA와 6xhistidine 결합은 아주 강한 결합이 아니기 때문에 실험 중 계속해서 탈착되는 경우가 있습니다. 충분한 washing을 진행한 후 drift가 최소화 되었을 때 분석을 진행할 것을 권장합니다.

아이클루바이오에서 제공하는 NiHC1000 센서 칩은 NTA와 6xhistidine의 결합력을 매우 강하게 향상시킨 특별한 제품입니다. 위와 같은 문제가 걱정된다면 NiHC1000 사용을 권장합니다.



## His-tag capture Kit lists

제품번호	구성 품목
IMHT1000	350mM EDTA solution, 50 ml 5mM NiCl <sub>2</sub> solution, 25 ml 4M Imidazole, 25 ml 10XHBST, 50 ml

## His-tag capture Kit 분주 및 보관

구성 품목	분주 및 보관
NiCl <sub>2</sub> solution	1. 250 ul 용량으로 분주 2. 분주 후 냉동보관
EDTA solution, 50 ml	실온보관
4M Imidazole, 50 ml	실온보관
10X HBST, 50 ml	실온보관

## 센서 칩 장착 및 평형 상태

- 1 냉장 보관되어 있는 센서 칩을 센서 칩 케이스에서 flat tweezer를 이용하여 조심스럽게 꺼내어 프리즘홀더에 장착합니다.

**Note:** 센서 칩 케이스에 붙어 있는 면이 프리즘홀더의 프리즘과 결합되는 면입니다. 센서 칩을 반대로 장착하면 재사용 시 100% 성능이 보장되지 않습니다.

- 2 1X HBST 버퍼로 Priming을 진행한 후 350mM EDTA 용액을 3~5분 정도 센서 칩을 washing 해 줍니다.

**Note:** 10X HBST 버퍼는 실험 바로 전에 DIw에 10배 희석하여 준비해 줍니다.

## Ligand 고정화

- 1 냉동/냉장 보관되어 있는  $\text{NiCl}_2$  solution (250 ul) 실온에 준비합니다.

Note: Ligand 물질은 물질 특성에 맞게 준비합니다. 실온에 준비한 후 가능한 신속하게 실험을 진행합니다.

- 2 Activation:  $\text{NiCl}_2$  250 ul를 준비한 후 5~10분 센서 칩에 흘려주어 NTA 표면에  $\text{Ni}^{2+}$ 를 결합시켜 줍니다.

Note: activation 단계의 권장 유속은 10~30 ul/min 입니다.

- 3 Ligand 고정화: Ligand를 1 x HBST 버퍼에 1~100 ug/ml 농도로 희석하여 1~30분 동안 주입해 줍니다.

Note: 목표 고정화 레벨에 따라 시간, 유속, 농도를 조절하여 고정화 단계를 수행해 줍니다.

Note: analyte와의 결합을 수행한 결과 비특이적 흡착이 많다면 serum albumin을 100 ug/ml로 제조하여 blocking 단계전에 추가로 수행해 줍니다.

## Analytes 분석

- 1 더 이상 탈착 되는 신호가 관찰되지 않고, 센서그램 평형 상태가 관찰된다면, analyte를 분석해 줍니다. 대표농도 1~3 가지 (100 nM, 1 uM, 10 uM) 정도를 우선 주입하여 신호가 있는지 확인합니다.

Note: chemical의 경우 100 uM까지 수행해야 하는 것을 권장합니다.

- 2 신호가 감지 되었다면 포화 농도라고 판단되는 농도부터 2배씩 희석하여 5개 이상의 농도별 센서그램을 획득합니다. 농도 0 nM (러닝 버퍼) 역시 센서그램을 획득하여 결합 외 신호에 대한 보정 작업에 활용합니다.

Note: kinetics evaluation을 위해서는 유속을 50 ~70 uL/min으로 진행할 것을 권장합니다. 해리가 잘 되지 않는 결합의 경우 해리 구간을 결합구간 대비 5~10배 (일반적으로는 2배) 길게 진행해 줄 것을 권장합니다.

## Regeneration

해리가 완전히 되지 않는 결합의 경우 regeneration 버퍼를 이용한 regeneration 단계가 필요합니다. 여러 농도를 분석하기 위해서는 농도와 농도 사이에 regeneration을 수행해 줍니다. NTA 표면과 his-tag Protein의 결합은 비공유 결합이기 때문에 regeneration 시 his-tag Protein이 탈착되게 됩니다. 따라서 regeneration 수행 후 다시 his-tag Protein을 흡착시켜야 합니다. Regeneration 용액으로는 EDTA, Imidazole, NaCl 등을 사용 할 수 있습니다.

## NTA 센서 칩 보관

아이클루바이오에서 제공하는 Storage kit을 이용하여 His-tag Protein이 제거된 재생 NTA 센서 칩을 보관할 수 있습니다. 프리즘 홀더에 전용 storage FM을 장착한 후 glycerol buffer를 로딩해 주세요. Ligand의 특성에 따라 다르지만 1개월 이상 보관 후 사용이 가능합니다.

**Note:**

1. 더 자세한 설명은 장치 구입시 제공받은 핸드북을 참고해 주세요.

**[www.icluebio.com](http://www.icluebio.com)**

icluebio의 센서 칩과 버퍼 및 시약류는 대한민국에서 제조되며, specialist의 정밀한 품질검사를 통해 고객에게 최종적으로 전달됩니다.

제품문의: 031-757-6180, 학술사업팀 담당자

이메일: [sales@icluebio.co.kr](mailto:sales@icluebio.co.kr)