

Ex-Pure ProA/ProG 取扱説明書

本製品は均一な連続孔を持つフィルター型モノリスシリカの固相表面に、(独)産業技術総合研究所の技術を用いてプロテイン A (もしくは G) を固定化しております。両技術により、簡単に短時間での IgG 抗体精製を可能にしました。

1. はじめに

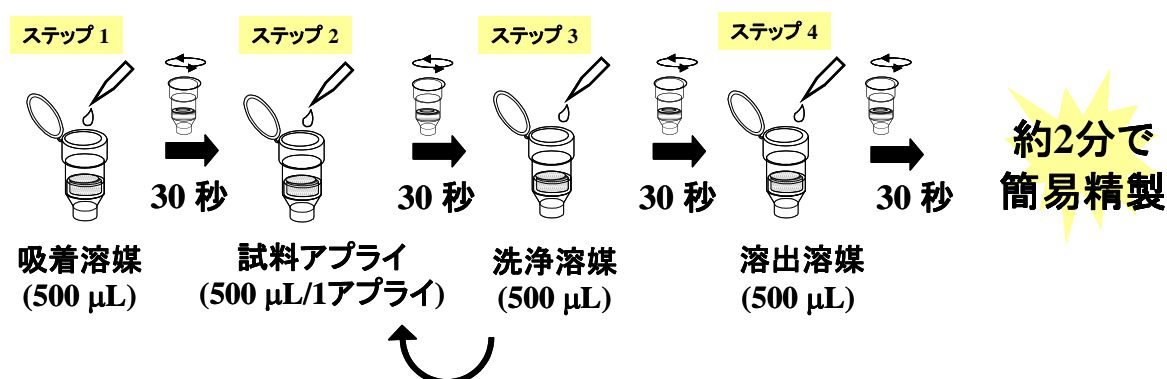
開封されましたら梱包内容、チップの概観、数量、溶液などに間違いがないかお確かめ下さい。

・モノリスシリカスピニングカラム (Ex-Pure ProA or ProG)	10 本
・サンプリングチューブ	10 本
・各種溶液 (吸着溶液、洗浄溶液、溶出溶液、中和溶液※、再生溶液)	各 30ml
※中和溶液は 15mL です。	
・取扱い説明書	1 部

2. 取扱いの注意

- スピニングカラムを落としたり、ぶつけたりしないでください。強いショックを与えるとモノリスゲルが壊れることがありますのでご注意ください。
- 各種溶液はろ過滅菌操作を行っておりますが、使用しない場合は冷暗所で保存してください。
- 遠心機を用いる場合はチューブ類が装置の蓋などに接触しない事を確認の上ご使用下さい。
- **操作中は、基本的に蓋をせずに使用してください。**蓋をすると通液が効率良く行えません。
- 使用しない時は、冷蔵で保管してください。モノリスシリカゲルを乾かさなないように、スピニングカラム内を 20vol%エタノールで満たしてください。カラム性能が低下する場合があります。

3. 操作例



ステップ 1) カラム内の 20 %エタノール溶液を取り除き、吸着溶液を 500 µL 加えて遠心分離を 6000 rpm で 30 秒程度行う。

ステップ 2) 抗体試料を 500 µL アプライ (試料の pH を 7 付近に調整しておく)。濃縮精製を行う場合は、試料アプライ→遠心→試料アプライ、というようにステップ 2 のアプライ数を増やす。

ステップ 3) 洗浄溶液を 500 μ L 加えて、遠心分離を 30 秒程度行う。

ステップ 4) サンプリングチューブ側に中和溶液を 50 μ l 入れておき、カラムに溶出溶液を 500 μ l 加えて遠心分離を 30 秒程度行い、通過液を回収する。《注意》ProGカラムの場合は溶 G 溶液と記載されています。

再使用する場合

ステップ 5) 再生溶液を 500 μ L 加えて遠心分離を 30 秒程度行う。

ステップ 6) ステップ 1 の吸着溶液を加えるところから行う。

※ 遠心分離の時間は、試料濃度などに影響がございます。

4. カラム性能

Ex-Pure ProAは0.4 mgまでのIgGを90%以上で回収することができます。また、Ex-Pure ProGは0.3mgまでIgGを90%以上で回収することが可能です(図1)。さらに、ProteinA スピンカラムには結合できないIgG3タイプの抗体も精製・回収することができます。※回収率は、抗体の種類、濃度、及び遠心機の回転速度によって変化します。

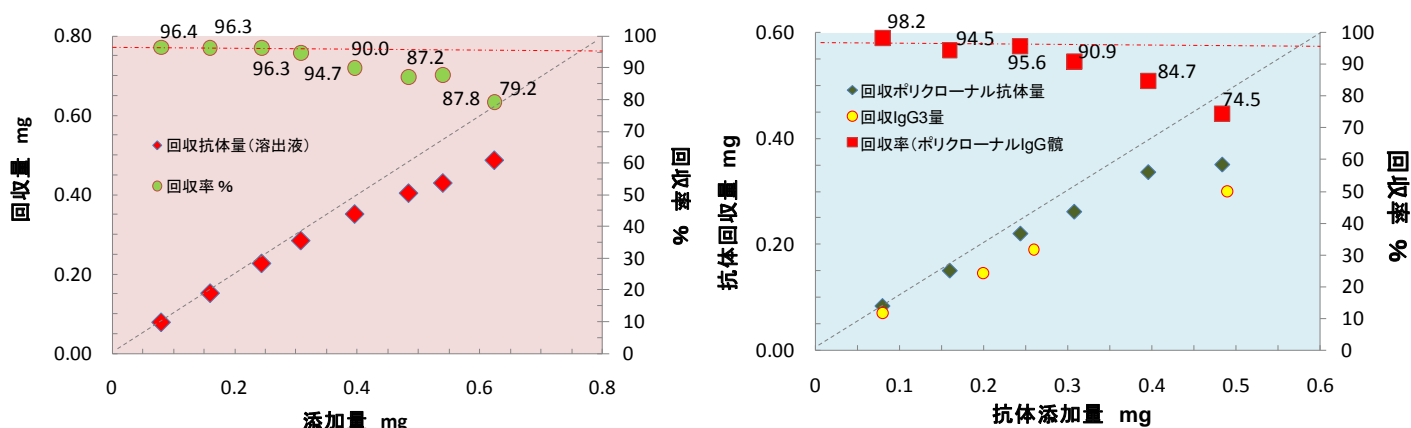


図 1.Ex-Pure ProA (左)、ProG (右)の IgG 添加量-回収量プロット

実際に CHO 細胞の培養液から定量的に抗体濃度を測定した結果を図 2 に示します。精製された抗体は電気泳動で確認した結果、不純物をほとんど含んでいないことがわかります(図 2 右)。

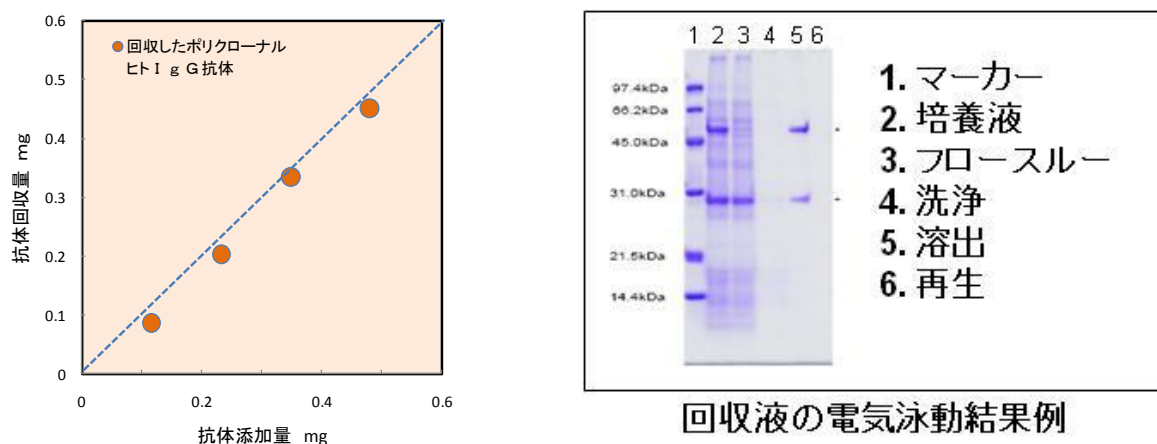


図 2.CHO 細胞からのポリクローナル抗体の回収、精製