

Ab-Capcher ExTra と Protein L を用いた ヒトIgGのFab fragmentの精製

反応プロトコール

ヒトIgG (10 mg/mL)

IgG の papain 消化

- ↓ 1/10 容量の papain (1 mg/mL) を添加し、37°C、1時間反応
- ↓ 1M ヨードアセトアミド (final 15mM) を加えて反応を停止

Ab-Capcher ExTra 充填カラム (PBSで平衡化)

未消化IgG と
Fc fragment の除去

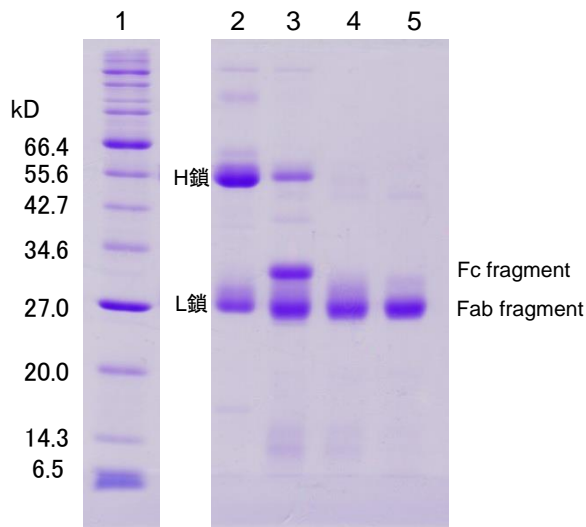
- ↓ papain 消化物をカラムに添加
- ↓ 素通り (FT) 画分を回収

プロテノバ Protein L 固定化ゲル充填カラム (PBSで平衡化)

Fab fragment
の回収

- ↓ Ab-Capcher ExTra FT 画分をカラムに添加
- ↓ FT 画分を回収
- ↓ PBS でカラムを洗浄
- ↓ 0.1M glycine-HCl pH 2.5 で溶出
- ↓ 1M Tris で溶出画分を中和

精製完了



SDS-PAGE

ゲル: 15% a.a. (Tris-Glycine)

染色: CBB

レーン1: MW marker

レーン2: ヒトIgG

レーン3: papain 消化後のヒトIgG

レーン4: Ab-Capcher ExTra FT画分

レーン5: Protein L 溶出画分

Ab-Capcher ExTra およびプロテノバ Protein L 固定化ゲルを用いて、ヒトIgG から、Fab fragment の精製を行った。ヒトIgG は、papain 消化により、Fab fragment とFc fragment を生じた (レーン3)。この papain 消化物を Ab-Capcher ExTra 充填カラムに添加することにより、未消化IgG および Fc fragment がカラムに吸着され、Fab を含む FT 画分が回収された (レーン4)。この FT 画分をプロテノバ Protein L 充填カラムに添加し、溶出画分を回収した。Protein L カラム溶出画分には、Fab fragment が高純度で含まれていることが SDS-PAGE によって確認された (レーン5)。以上の結果から、Ab-Capcher ExTra とプロテノバ Protein L 固定化ゲルの組み合わせが、Fab fragment の精製に有効であることが分かった。

プロテノバ株式会社

〒769-2604

香川県東かがわ市西村1488番地1

TEL 0879-49-0702 / FAX 0879-49-0703

ホームページ <http://protenova.com>