

Ab-Capcher ExTra™

耐アルカリ性抗体精製用アフィニティーゲル担体

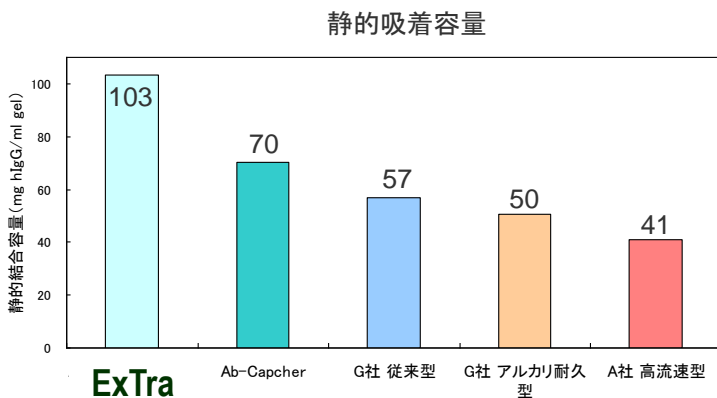
Ab-Capcher ExTra は、Ab-Capcher の特徴である耐アルカリ性とマウス・ラットを含む多くの生物種の IgG に対する高い結合能を継承するとともに、結合容量を大幅に改善した抗体精製用アフィニティーゲル担体です。高流速対応の 6% 高度架橋アガロースゲル担体をベースとして、耐アルカリ性プロテイン A 誘導体 (Protein A-R28) を化学安定性の高い 2 級アミン結合により多点で固定化しているため、リガンド漏出を最小限に抑えるとともに高流速での使用が可能です。推奨線流速の 100 cm/hr では、70 mg/mL gel のヒト IgG 結合量を達成しています (図 1)。マウスモノクローナル IgG では、Protein G ゲル担体の 5.1 倍の静的吸着量となる約 20 mg/mL gel のマウス IgG1 が結合しています (図 3)。またこれまでのゲル担体では結合が弱いラット IgG の場合、ラット血清から 20 mg/mL gel 以上のラット IgG を精製しています (図 4)。高い吸着容量と耐アルカリ性を有する Ab-Capcher ExTra は、これまでのゲル担体の使用ゲル量を大幅に減らすことができるので、精製の効率アップ、精製抗体濃縮、抗体精製コストの低減に役立ちます。また安価な NaOH によるゲル洗浄はアフィニティーゲル担体の使用寿命の延長に役立ちます。

Ab-Capcher ExTra は、製造ロット毎にゲルからの溶出液にエンドトキシンが検出されないことをパイロジェンテストで確認しているため、ExTra で精製した抗体は細胞の試験に直接使用することができます*。バルクゲルに加えて、シリンジで精製できるルアーロックタイプの 1 mL パックドカラムや卓上遠心機を使った小スケール精製の 100 μ L スピンカラムの 3 種類の形態でご提供いたします。パックドカラムはチューブポンプや FPLC・HPLC といったクロマトグラフィーシステムに接続して IgG を精製することもできます。

*エンドトキシンフリーで細胞試験を実施する場合、抗体の精製にはエンドトキシンフリーのバッファー類をご使用ください。

基本性能

吸着容量の比較 (図 1)

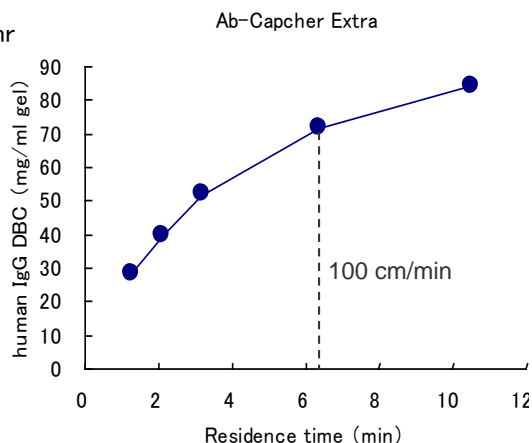
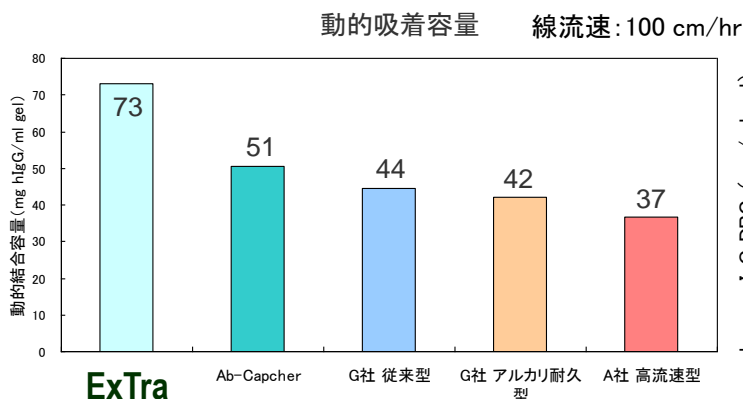


静的吸着容量 (最大結合容量):

過剰量のヒト IgG (ポリクローナル) をゲル担体に加え、室温で 1 時間振とう、洗浄後に pH 2.8 で溶出した IgG 量を測定。

動的吸着容量 (カラムの結合量):

カラム 5 × 100mm に線流速 100 cm/hr (0.33 mL/min) にて 3 mg/mL のヒトポリクローナル IgG を流した。カラム出口から 10% 濃度の IgG が結合せずに通過してくる時間を測定し、IgG 結合量を求めた。



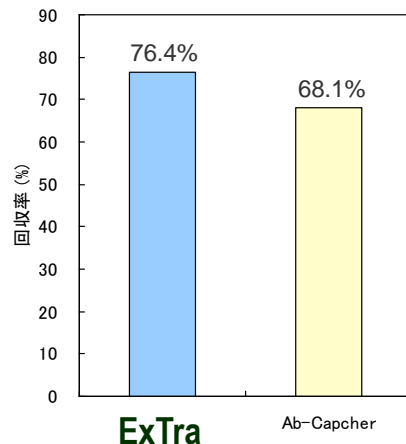
● 低濃度 mouse IgG1 の繰返し添加による精製 (図2)

使用ゲル量: 100 μ L/column

サンプル: 精製マウス IgG1 (0.1 mg/mL PBS) 10 mL

繰返し添加回数: 20回

培養上清中のマウスモノクローナル抗体を想定して、低濃度抗体溶液を繰返し添加して精製を行った。Ab-Rapid SPiN プロトコールに従って 0.1 mg/mL 濃度に調製した精製マウスIgG1の 0.5 mL を遠心機内のSPiN カラムに添加、時々混和、4分後に遠心、この操作を20回繰返し合計10 mL のIgG溶液を処理し、洗浄後にpH 2.8 にて溶出した。回収率は添加抗体量を100とした溶出IgG量の割合を示す。Ab-Capcher ExTra の平均粒子径が 35 μ m なので溶液分散性の良さも高い回収率の要因になっていると考えられる。



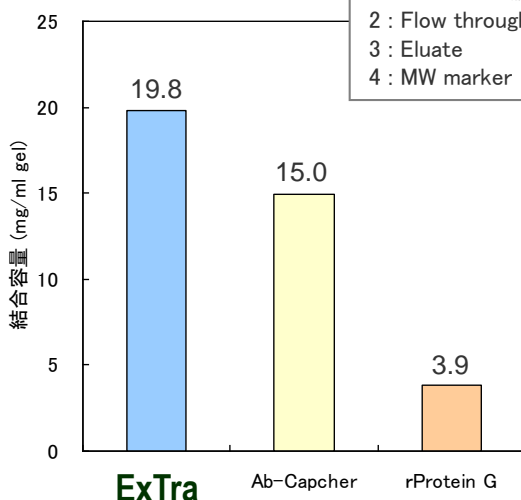
● マウス腹水からのマウス IgG1 精製 (図3)

使用ゲル量: 50 μ L/column

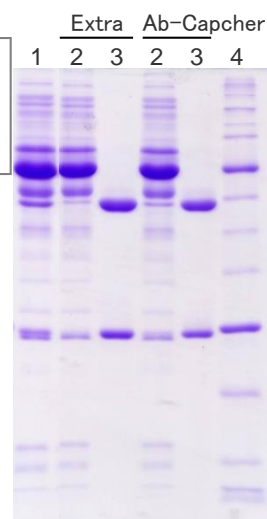
サンプル: PBSにて2倍希釈したマウス腹水 1 mL

ゲル接触時間: 2時間

マウスIgG1を含むマウス腹水をPBSにて2倍希釈後にゲル担体に加え、2時間振とうした。ゲルを洗浄後、pH 2.8 にて溶出した。Ab-Capcher Extra は、rProtein Gレジンに比べて5.1 倍の結合量を示した。またAb-Capcher と比べて結合量が約 30% 増加した。

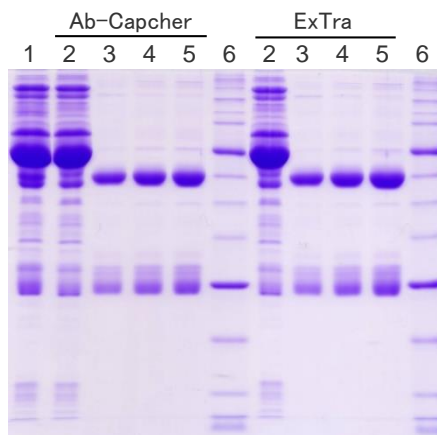
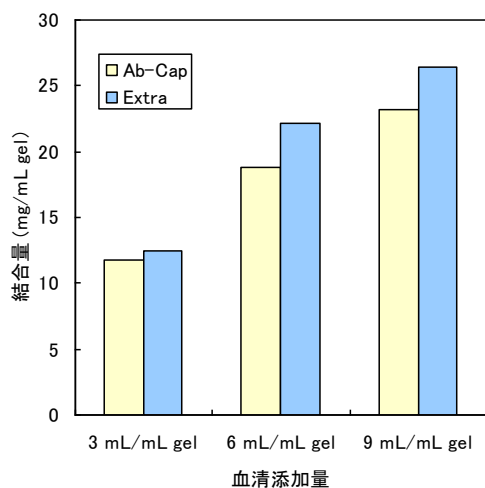


1: \times 2 マウス腹水
2: Flow through
3: Eluate
4: MW marker



● ラット血清からの IgG 精製 (図4)

手順はアプリケーションデータNo.22 に記載



12.5% ゲル

1: \times 2 ラット血清
2: Flow through
3: 3mL/mL gel_Eluate
4: 6mL/mL gel_Eluate
5: 9mL/mL gel_Eluate
6: MW marker

Ab-Capcher ExTra はラット血清から約95%の収率でIgGを精製することができた。Ab-Capcherとの比較では約20% 結合量が増加した。