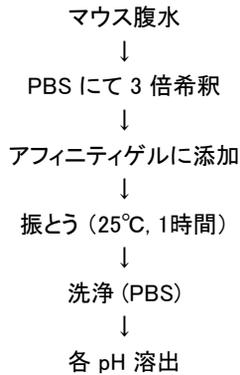


高 pH バッファーを用いた マウス IgG1 精製の検討

精製の流れ

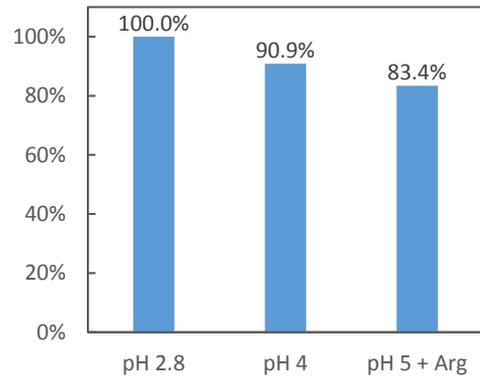


※溶出バッファ : 0.1 M Glycine-HCl, pH 2.8
0.1 M ケン酸 Na, pH 4
1 M アルギニン含有 0.1 M ケン酸 Na, pH 5

IgG 結合量

溶出 pH	Mouse IgG1 結合量 (mg/mL gel)
pH 2.8	14.2
pH 4	12.9
pH 5 + Arg	11.9

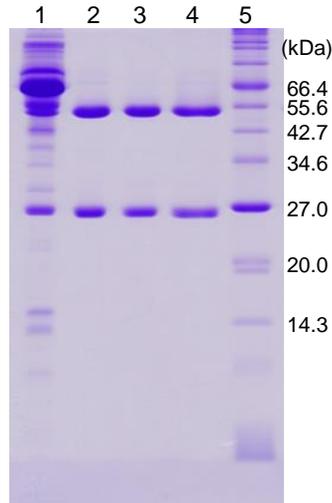
pH 2.8 溶出に対する各 pH の割合



電気泳動結果

ゲル: 15% (Tris-Glycine)
染色: CBB

レーン 1: マウス腹水
レーン 2: pH 2.8 Elute
レーン 3: pH 4 Elute
レーン 4: pH 5 + Arg Elute
レーン 5: MW marker



IgGを酸性pHで精製すると、IgGが凝集したり活性が低下するといった問題が生じることがある。Ab-Capcher や同ExTraの標準プロトコールではpH 2.8 を推奨しているが、マウス等のIgGではより高いpHで溶出されることを確認している。そこでマウス腹水からマウスIgG1をAb-Capcher ExTra にて精製するときの溶出 pH 条件を検討した。溶出に3種類のpH条件を使用したところ、pH 2.8 での溶出を100%とすると pH 4 では約 91%、アルギニン含有のpH 5/バッファーでは約 83% の割合で溶出回収できた。これらの精製 IgG1 を SDS-PAGE に供した結果、いずれの溶出条件であっても高い純度で精製できることを確認した。

以上の結果より、Ab-Capcher ExTra によるマウス IgG1 精製には pH 4 での溶出が可能であり、アルギニンを含むバッファー*ではさらに高いpH 5 で 80% 以上の収率で高純度にマウスIgG1を精製できることがわかった。

* Arakawa, *et al.* "Elution of antibodies from a Protein A column by aqueous arginine solutions" Protein Expr. Puri. 36(2004)244-248

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>