

研究用試薬



抗体精製用レジン

取扱説明書 (Version 1.1)

Bipo Resin Protein A (Alkaline Resistance)	Code; AAR-025
Bipo Resin Protein A (Weak Acid)	Code; AWA-025
Bipo Resin Protein L (Alkaline Resistance)	Code; LAR-025
Bipo Resin Protein G (Alkaline Resistance)	Code; GAR-025

- 本製品は研究用試薬ですので、臨床診断用途には使用しないでください。
- 万一、試薬などが目や皮膚に付着した場合、また飲み込んだりした場合には、すみやかに医師に相談し、その指示に従ってください。
- 廃棄される場合は、各施設の化学物質廃棄要領に従ってください。

株式会社プロテイン・エクスプレス

URL : <http://www.proteinexpress.co.jp>

〒260-0856 千葉県千葉市中央区亥鼻 1-8-15

TEL : 043-202-5755 FAX : 043-202-5756

E-mail : service@proteinexpress.co.jp

Resins for antibody purification

1. はじめに

抗体結合タンパク質として、*Staphylococcus aureus* 由来のプロテイン A、*Fingoldia magna* (旧分類名 *Peptostreptococcus magnus*) 由来のプロテイン L、group G streptococci 由来のプロテイン G が知られています。プロテイン A、プロテイン G は IgG と結合しますが、動物種や IgG のサブクラスにより、結合の特性が異なります。プロテイン L は抗体軽鎖の κ 鎖と親和性を持ち、Fab (fragment antigen binding) や scFv (single-chain variable fragment) といった低分子抗体とも結合が可能です。

本製品群はこれらの抗体結合タンパク質の変異体を親水性ポリマー担体に固定化した、抗体精製用レジンです。抗体、および低分子抗体の精製や、免疫沈降等の用途に使用することが可能です。

本製品群に用いられる抗体結合タンパク質は、分子デザインが施された組み換えタンパク質として生産されたものです。これら抗体結合タンパク質を非特異的吸着の少ない親水性のポリマーに固定化し、下記のような特長をもつ抗体精製用レジンとして開発されました。

製品名	特長	最大抗体結合容量 (mg/mL-resin)
Bipo Resin Protein A (Alkaline Resistance)	アルカリ耐性型	28 (human IgG)
Bipo Resin Protein A (Weak Acid)	弱酸性溶出型*	31 (human IgG)
Bipo Resin Protein L (Alkaline Resistance)	アルカリ耐性型	13 (human IgG) 1.2 (scFv)
Bipo Resin Protein G (Alkaline Resistance)	アルカリ耐性型	26 (human IgG)

表1 各製品の特長と最大抗体結合容量

Bipo Resin Protein A (Alkaline Resistance)、Bipo Resin Protein G (Alkaline Resistance)、Bipo Resin Protein L (Alkaline Resistance) に固定化された抗体結合タンパク質は、プロテイン A、プロテイン L、プロテイン G のアミノ酸配列に対し、アルカリ性溶液に耐久性の高い変異を導入したものです (プロテイン L、プロテイン G のアルカリ耐性変異体に関しては特許出願中)。

Resins for antibody purification

Bipo Resin Protein A(Weak Acid)に固定化された抗体結合タンパク質は、国立研究開発法人 産業技術総合研究所(産総研)にて開発された弱酸性(pH3.5-4.5)で抗体を溶出可能なプロテイン A 変異体です。本変異体は産総研が保有する特許技術を株式会社プロテイン・エクスプレスがライセンスを受けて製造販売しています。

2. 使用用途・製品内容・保存

使用用途; 抗体または低分子抗体(Fab、scFv 等)の精製、免疫沈降

製品内容; 25mL resin in 20% EtOH (50% slurry)(平均粒子径; 60 μ m)

保存; 4°C

(注意) スピнкаラムやエンプティカラムでの処理を行なう際は、別途ご用意ください。

例) マイクロバイオスピノマトグラフィー用カラム

(バイオラッドラボラトリーズ社、#732-6204)

3. 使用方法例

抗体精製を行なう場合の使用法例を以下に示しますが、抗体の濃度や特性、使用される(スピン)カラムに応じて、適宜調整してください。

1) サンプル調製、使用するバッファー

サンプルは PBS 等に溶解してください。

洗浄バッファー; PBS

溶出バッファー; 0.1 M Glycine, pH2.5

* Bipo Resin ProteinA(Weak Acid)は弱酸性(0.1M Citrate, pH3.5~4.0)での溶出も可能です。

中和バッファー; 1.0 M Tris, pH9.0

2) カラムの充填、平衡化

500 μ L 容量のスピнкаラムに、レジン懸濁液を 100 μ L 加え、遠心(3,000 \times g、~ 1 分間)にて、濾液を排出します。蒸留水(400 μ L)を加え、遠心により、濾液を排出することを 2 回繰り返します。PBS(400 μ L)を加え、遠心により、濾液を排出することを 2 回繰り返します。

3) 抗体の精製

3-1) サンプルを平衡化したカラムに加え、5 分間インキュベートします。

Resins for antibody purification

3-2) 遠心により、濾液を除去します。

3-3) PBS (400 μ L)を加え、遠心により濾液を除去します(3回)。

3-4) 溶出バッファー(100 μ L)を加え、1~2分間インキュベートします。あらかじめ中和バッファー(5 μ L)を入れた回収用チューブに濾液を排出します(2回)。

4. カラムの洗浄

カラムを繰り返し使用する場合は、以下の条件のアルカリ洗浄を実施してください。

Bipo Resin Protein A (Alkaline Resistance) 100 mM NaOH、 10 分間

Bipo Resin Protein A (Weak Acid) 100 mM NaOH、 10 分間

Bipo Resin Protein L (Alkaline Resistance) 15 mM NaOH、 10 分間

Bipo Resin Protein G (Alkaline Resistance) 50 mM NaOH、 10 分間

注意) 洗浄後は速やかに蒸留水に置換した後に、さらに 20%エタノールに置換後、
4°Cで保管してください。

5. リガンドの定量

リークしたリガンド量は、市販の ELISA キットなどで定量することが可能です。測定の際は、弊社から販売しているリガンドを標準品として使用してください。

詳細はお問い合わせください。

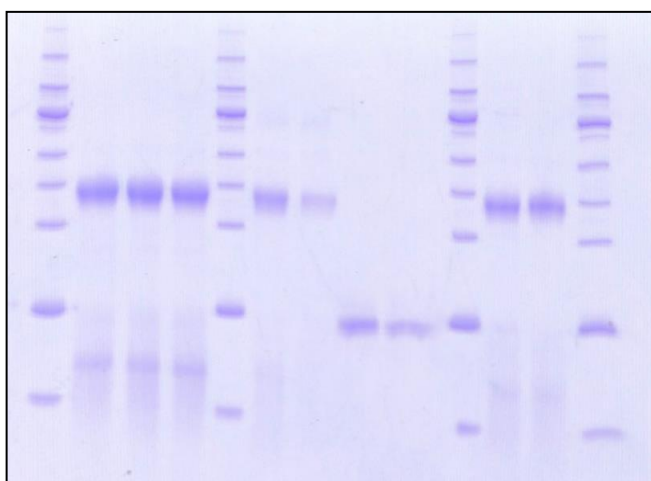
Resins for antibody purification

6. アプリケーションデータ

1) 各レジンにより精製された抗体及び scFv の SDS-PAGE 解析

本製品群を使用して精製された IgG、および scFv の SDS-PAGE の結果を示した

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

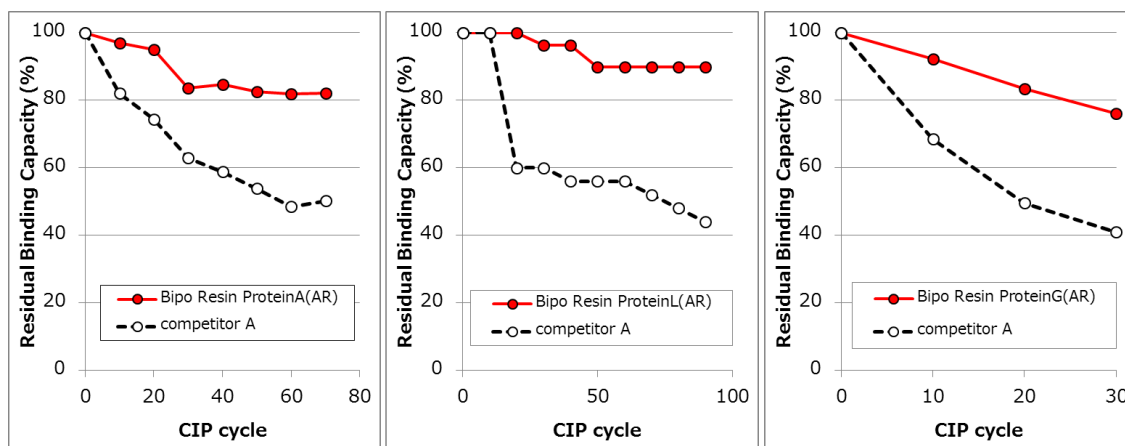


1. marker
2. IgG from Bipo Resin Protein A(Alkaline Resistance)
3. IgG from Bipo Resin Protein A(Weak Acid)
4. IgG from competitor ProteinA Resin
5. marker
6. IgG from Bipo Resin Protein L(Alkaline Resistance)
7. IgG from competitor ProteinL Resin
8. scFv from Bipo Resin Protein L(Alkaline Resistance)
9. scFv from competitor ProteinL Resin
10. marker
11. IgG from Bipo Resin Protein G(Alkaline Resistance)
12. IgG from competitor ProteinG Resin
13. marker

2) 抗体結合能に対するアルカリ洗浄の影響

各レジンのアルカリ洗浄 (CIP) に対する耐久性を、抗体結合容量を指標に評価した結果を示した。CIP は下記の条件で繰り返し行い、実施前の結合容量を100%とした。

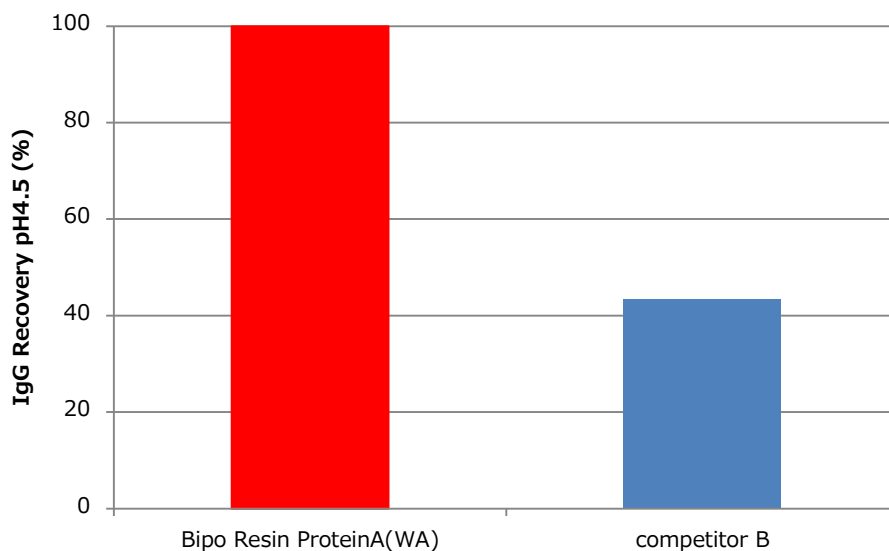
Bipo Resin Protein A(Alkaline Resistance)	1M NaOH、	10 分間
Bipo Resin Protein L(Alkaline Resistance)	15 mM NaOH、	10 分間
Bipo Resin Protein G(Alkaline Resistance)	50 mM NaOH、	10 分間



Resins for antibody purification

3) Bipo Resin Protein A(Weak Acid) の pH4.5 での溶出効率

Bipo Resin Protein A(Weak Acid) および B 社プロテイン A レジンに IgG を結合させ、pH4.5 にて溶出した際の、IgG の回収量を示した。



7. 関連製品

リガンド標準品

Protein A (Alkaline Resistance)	code; AAR-P
Protein A (Weak Acid)	code; AWA-P
Protein L (Alkaline Resistance)	code; LAR-P
Protein G (Alkaline Resistance)	code; GAR-P

8. 特記事項

本製品群は下記の事業の支援によって開発されたものです。

平成 23 年度 戦略的基盤技術高度化支援事業

平成 26 年度 イノベーション実用化ベンチャー支援事業

Resins for antibody purification

9. 製品についてのお問い合わせ先

株式会社プロテイン・エクスプレス

URL : <http://www.proteinexpress.co.jp>

〒260-0856 千葉県千葉市中央区亥鼻 1-8-15

TEL : 043-202-5755

FAX : 043-202-5756

E-mail : service@proteinexpress.co.jp