

温度溶出型プロテインA

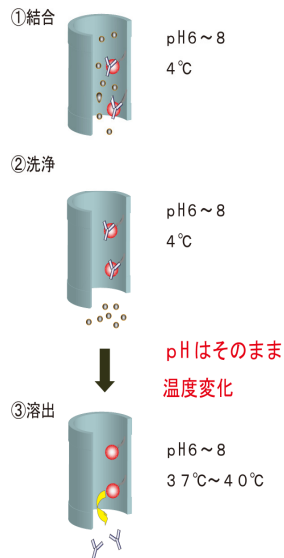
Byzen Pro

使用説明書

ノマディックバイオサイエンス株式会社
〒701-1221 岡山県岡山市北区芳賀 5303 番
岡山リサーチパークインキュベーションセンター
TEL: 086-286-9507 FAX : 086-286-9508
Email : info@nomadicbio.com
URL: www.nomadicbio.com

1. 製品の概要

Byzen Pro の特徴は、温度変化によって抗体の結合と解離を制御できることにあります。野生型プロテインAでは、強酸による溶出を行うため、潜在的に抗体が凝集体を形成する恐れが指摘されています。**Byzen Pro** は、任意のpHの緩衝液が使用できるため、酸による抗体の活性低下リスクを回避できます。



○中性条件下で溶出可能

酸性条件下で精製を行う必要がなく、凝集体や活性低下などのリスクが防止できます。

○温度変化で結合と溶出を制御

4°Cで結合、37°C~40°Cで溶出できます。

○任意の緩衝液で溶出可能

中性であれば緩衝液を自由に選択でき、抗体溶出後の緩衝液交換が不要になります。

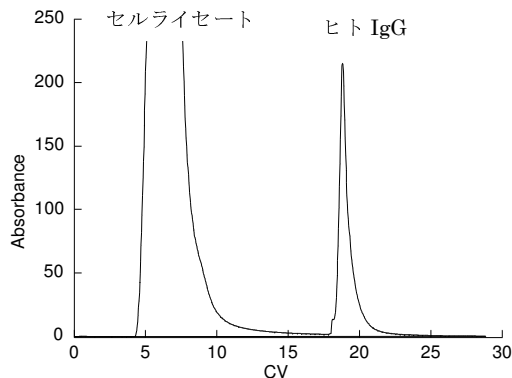
○優れた抗体吸着特異性

野生型プロテインAと同様の特異性を持ち、優れた不純物淘汰能力を持っています。

○ヒト抗体回収率は95%以上

2.1 密閉型カラムを使用した精製例

クロマト装置又はポンプに接続して送液を行う場合は、カラム圧力が0.3 MPaを超えないようにご注意ください。



- ・カラム体積: 1.0 ml
- ・カラム高: 2.5 cm
- ・緩衝液A (結合および溶出用): 20 mM Phosphate, 150 mM NaCl, pH 8.0
- ・流速: 1.0 ml/min
- ・結合温度: 4 °C
- ・溶出温度: 40 °C
- ・サンプル: ヒト IgG (1 mg) + セルライセート(1 ml)

【精製】

- ① カラムを5 CVのH₂Oで置換し、カラムの手前に5 mlのループをつける。
- ② カラムとループを4 °Cに設定した恒温水槽に完全に沈水させ、カラムを緩衝液Aで平衡化する。

- ③ 約5分間待機した後、緩衝液Aの送液を開始して、サンプルをインジェクトする。
- ④ 不純物が除去された後(この例では、約15 CV(カラム体積)、送液を停止してカラムとループを40 °Cの恒温水槽に完全に沈水させる。
- ⑤ 約5分間待機した後、緩衝液Aの送液を開始してIgGを回収する。

【再生】

注意: 再生手順は、精製条件によって異なります。以下の手順は、一例を示したものであり、全ての場合で有効であることを保証するものではありません。

- ① カラムを常温に戻し、5 CVのH₂Oでカラムを洗浄する。
- ② 約5 CV以上の6 M グアニジン又は8 M 尿素でカラムを洗浄する(注: この操作は、グアニジン等の析出を防ぐため必ず室温に戻したうえで行う。また、これらの溶液は粘性が高いため、カラム圧力が上昇することがあるので注意が必要)。
- ③ 10 CV以上のH₂Oでカラムを洗浄した後、4°Cに設定した恒温水槽に沈水させ、5 CVの緩衝液Aで平衡化して、次の精製を行う。

2.2 ジャケット付オープンカラムを使用した精製例

オープンカラムを使用する場合は、ジャケット付のカラムを用いて循環水で温度調節を行うことを推奨します。また、温度変化の所要時間は使用環境によって異なるため、H₂Oを入れたカラムで事前に測定しておくことを推奨します。

重力落下による流速が遅い場合は、カラム出口にアスピレータ、チューブポンプ、シリンジ等を接続して吸引してください。

- ④ カラムの温度が 4 °Cであることを確認し、レジンの表面を乱さないように、4 °Cに冷却したサンプルをピペット等でカラムにロードし、重力落下させる（抗体濃度が低い場合、流速は 0.2 ml / min 程度を推奨）。
- ⑤ レジンの表面を乱さないように、4 °Cに冷却した緩衝液Aをピペット等でカラムにロードし、重力落下させる。不純物が除去されるまで、このステップを繰り返す。
- ⑥ ⑦～⑧の作業は、40 °Cに設定した恒温器にカラムを設置して行う。
- ⑦ カラムの温度が 40 °Cであることを確認し、レジンの表面を乱さないように、40 °Cの緩衝液Aをピペット等でカラムにロードし、数分待機した後、重力落下させてIgGを回収する。

【再生】

注意：再生手順は、精製条件によって異なります。以下の手順は、一例を示したものであり、全ての場合で有効であることを保証するものではありません。

- ① カラムを常温に戻し、5 CV の H₂O でカラムを洗浄する。
- ② 約 5 CV 以上の 6 M グアニジン又は 8 M 尿素でカラムを洗浄する（注：この操作は、グアニジン等の析出を防ぐため必ず室温に戻したうえで行う。重力落下の速度が遅くなる場合には、カラム出口からシリンジ等で吸引する。）。
- ③ 10 CV 以上の H₂O でカラムを洗浄した後、カラムの温度を再び 4°C に設定し、5 CV の緩衝液Aで平衡化して、次の精製を行う。

2.4 保存

- ① カラムを 5 CV の H₂O で置換する。
- ② 密閉型カラムの場合は、5 CV の 20 %エタノールでカラムを置換し、そのまま 4 °Cで保存する。
- ③ オープンカラムの場合は、5 CV の 20 %エタノールでカラムを置換し、レジンをカラムから取り出したうえで、20 %エタノール中、4 °Cで保存する。

3. 仕様

樹脂	ポリビニルアルコール
平均粒径	60 μm
耐圧	0.3 Mpa、3bar
流速(推奨)	125～250 cm/h
pH(推奨)	pH 6～pH 8
結合温度(推奨)	4 °C
溶出温度(推奨)	37 °C～40 °C
静的最大結合量	26～34 mg/ml (ヒト IgG)

精製に適した抗体

ヒト IgG₁、IgG₂、IgG₄

ウサギ IgG 等

4.カタログ番号

0809N05	5 ml
0809N25	25 ml