

一般研究用キット

Spin column based Antibody Purification Kit

Cat. No. APK-10A, APK-10G

2015年11月19日作成

www.cosmobio.co.jp

【I】はじめに

本製品は均一な連続孔を持つフィルター型モノリスシリカの固相表面に Protein A (#APK-10A) もしくは Protein G (#APK-10G) を固定化したスピncラム型の IgG 抗体精製キットです。従来品と比較して簡便に**短時間（約3分）**で IgG 抗体の精製が可能です。またカラムを再生することで最大で5回*1まで抗体結合能力が落ちることなく再利用することが可能です。

それぞれ1つのカラムあたり最大で Protein A は 0.4mg、Protein G は 0.3mg の IgG 抗体を 90% 以上の回収率で精製できます。

*1：精製済み抗体、培養上清を使用した場合、5回までカラムの再生使用が可能です。但し、血清中タンパク質など固形成分を含む場合はカラムの目詰まりの原因となり、再生回数、通液性が低下する場合がございますので、遠心除去、フィルター濾過などで固形成分の除去を行った後に使用してください。また、再生回数に関してはお客様のサンプル種によって変化するので当社では保証いたしかねます。

【II】構成品

保存温度：4℃（凍結禁止）

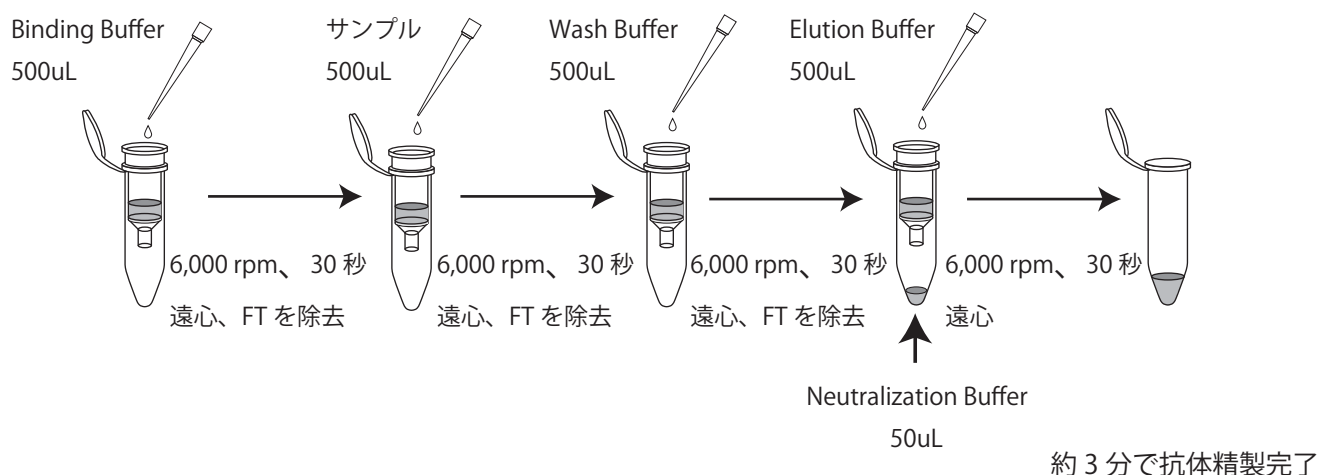
| 内容 | 容量 |
|-------------------------------------|------------|
| Monolithic silica-based Spin Column | 10 columns |
| Sampling tube | 10 tubes |
| Binding Buffer | 30mL |
| Wash Buffer | 30mL |
| Elution Buffer | 30mL |
| Neutralization Buffer | 15mL |
| Regeneration Buffer | 30mL |

本品は、研究目的にのみご使用ください。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないでください。
本マニュアルをご精読のうえ、研究目的にのみご使用ください。

【Ⅲ】 注意

- ・ **操作中はカラムの蓋を開けて使用してください。**蓋を閉じたまま遠心分離するとサンプルが通液しないことがあります。
- ・ スピнкаラムは20%エタノール溶液で満たされています。再利用する際には20%エタノール溶液で満たして保存し、カラムが乾燥しないように注意してください。乾燥はカラム性能の低下の原因となります。
- ・ スピнкаラムを落としたり、強いショックを与えたりしないで下さい。モノリスシリカゲルが破損する場合があります。

【Ⅳ】 クイックマニュアル



【Ⅴ】 手順

事前に抗体試料の pH を 7.0 付近に調整してください。また、サンプル量が少ない場合は PBS など 500uL になるように調整してください。

※使用前にエタノール溶液を 6,000 rpm、30 秒遠心し、取り除きます。

- ① カラムに Binding Buffer 500uL を加え、6,000 rpm、30 秒遠心し、取り除きます。
- ② カラムに抗体試料を 500uL 加え、6,000 rpm、30 秒遠心し、フロースルー (FT) を捨てます*2。
*2：抗体を濃縮する際にはカラムに抗体試料を 500uL ずつ加え、都度遠心し、FT を除去した後に抗体試料を加えてください。連続して行うと目詰まりの原因となりますので、2~3 回サンプルを通液するごとに Wash Buffer にてカラムを洗浄してください。
- ③ カラムに Wash Buffer 500uL を加え、6,000 rpm、30 秒遠心し、FT を捨てます。

- ④ **サンプリングチューブに Neutralization Buffer 50uL を加え**、カラムをセットし、カラムに Elution Buffer 500uL*3 を加え、6,000 rpm、30 秒遠心し抗体サンプルを回収します。カラムを再生使用する場合は手順⑤、⑥の再生処理を行った後に 4℃で保存してください。

*3：Elution Buffer は 100uL まで減らし高濃度で溶出することが可能です。この場合、Neutralization Buffer と Elution Buffer が 1:10 の比率になるようにサンプリングチューブに Neutralization Buffer を加えてください。ただし、吸着したすべての IgG 抗体を溶出出来ない場合がございます。

- ⑤ 再生使用する場合

Regeneration Buffer 500uL をカラムに加え、6,000 rpm、30 秒遠心し、FT を捨てます。

- ⑥ カラムに 20% エタノール溶液を加え上下とも蓋をし、4℃で保存します。

【VI】 参考

| カラムタイプ | 推奨サンプル | |
|-----------|-----------|------------------------------|
| Protein G | モノクローナル抗体 | ヒト IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 |
| | | マウス IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 |
| | ポリクローナル抗体 | ウサギ、ヤギ |
| Protein A | モノクローナル抗体 | ヒト IgG1, IgG2, IgG4 |
| | | マウス IgG2a, IgG2b, IgG3 |
| | ポリクローナル抗体 | ウサギ |

本商品をご利用になられた文献、発表データを募っております。

本商品をご利用いただき投稿された論文、学会発表/パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付方法

郵 送 〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
コスモ・バイオ株式会社 開発部 宛

E-mail cosmobio_BD@cosmobio.co.jp ※ PDF ファイルにてお送りください。