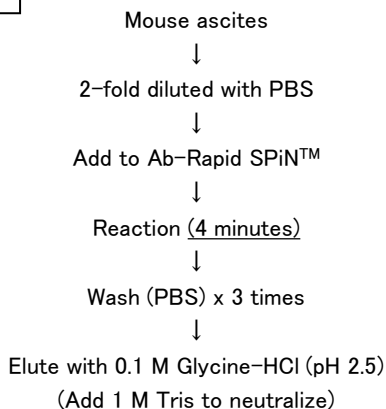


Ab-Rapid SPiN™ Purification of mouse monoclonal IgG1

Purification
flow
chart

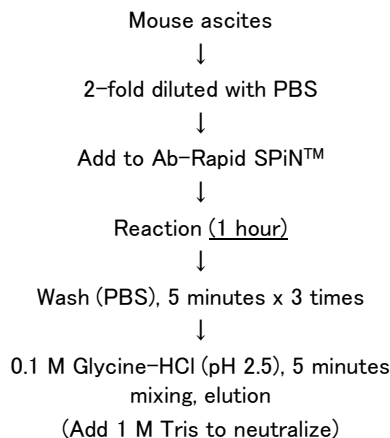
Duration: 10 minutes

Standard method

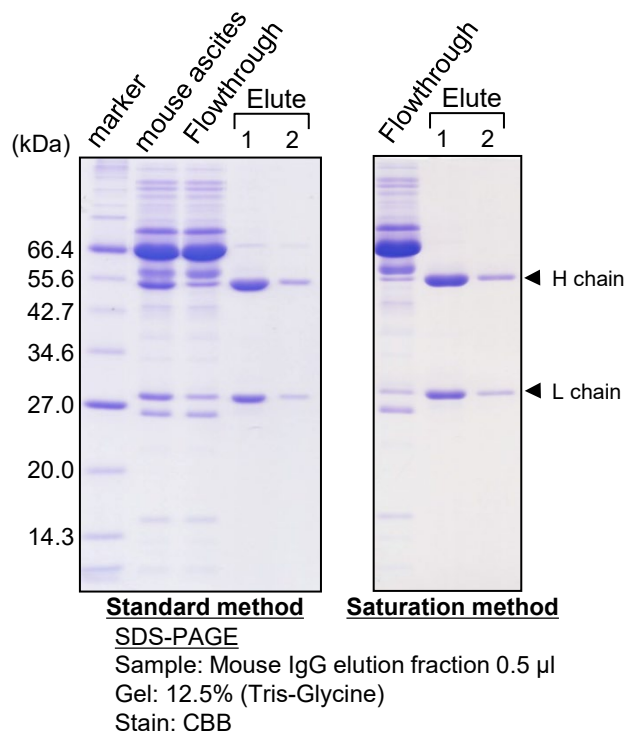
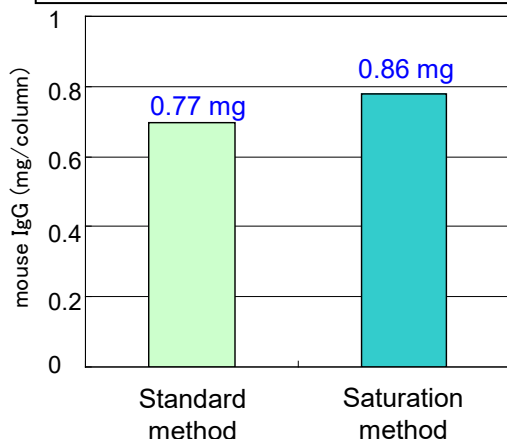


Duration: 90 minutes

Saturation method



Comparison of purified amount of
monoclonal IgG1



Purification of monoclonal IgG1 from mouse ascites was examined using Ab-Rapid SPiN™. Using the 90-minute saturation method, 0.86 mg of monoclonal IgG1 could be purified from 0.3 mL mouse ascites. With the recommended standard method, 0.77 mg of mouse IgG1 could be purified in 10 minutes. Given that 0.3 mL of mouse ascites used contained about 0.9 mg of IgG1, 86% of it could be purified in 10 minutes using the Rapid SPiN™ column. SDS-PAGE analysis revealed both methods to provide similar high purity, save for a slight albumin band detected by the standard method. By increasing the number and duration of washings in the standard method, the contaminating band can be reduced to the level found in the saturation method.

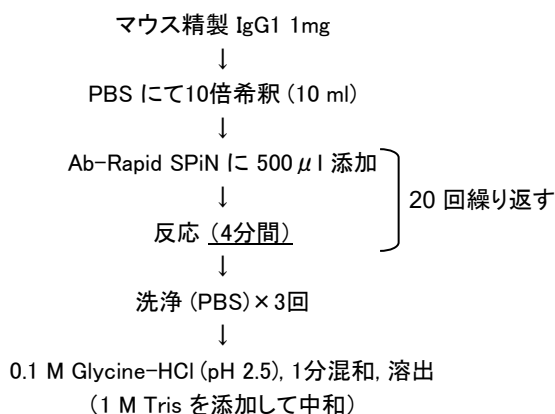
Ab-Rapid SPiN™

Purification by repeated addition of low-concentration IgG

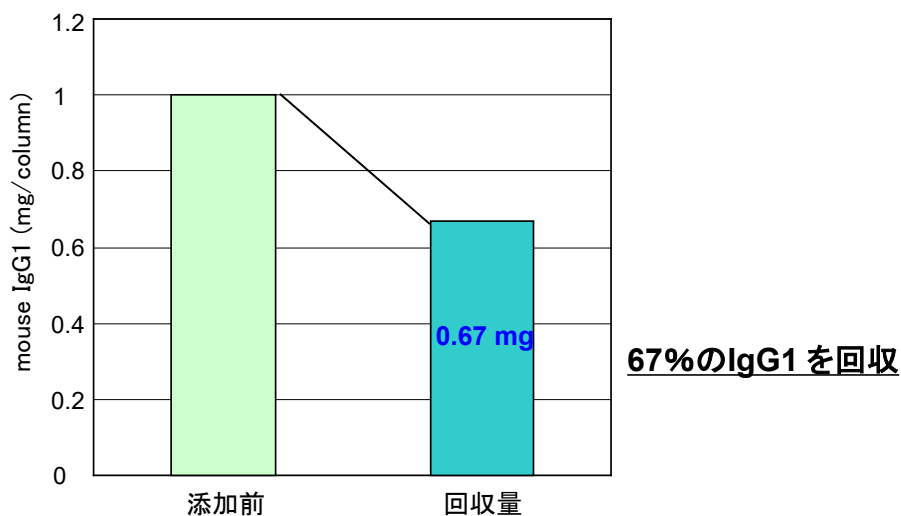
操作の流れ

所要時間: 95分

標準法



モノクローナルIgG1 回収量



マウスモノクローナルIgG1を100μg/mlの濃度に調製し、細胞培養上清などの低濃度IgGサンプルとしてAb-Rapid SPiNで精製を試みた。Ab-Rapid SPiNカラムへ500μlサンプルを20回繰り返して添加し、洗浄後に溶出した。その結果、マウスIgG1の1mgを含む10ml溶液から0.67mgのマウスIgG1を回収することができた。このことより、低濃度IgGサンプルであっても添加の回数を増やすことで濃縮・精製できることがわかった。

Ab-Rapid SPiN™ を用いた 低濃度タンパクからの精製検討

精製の流れ

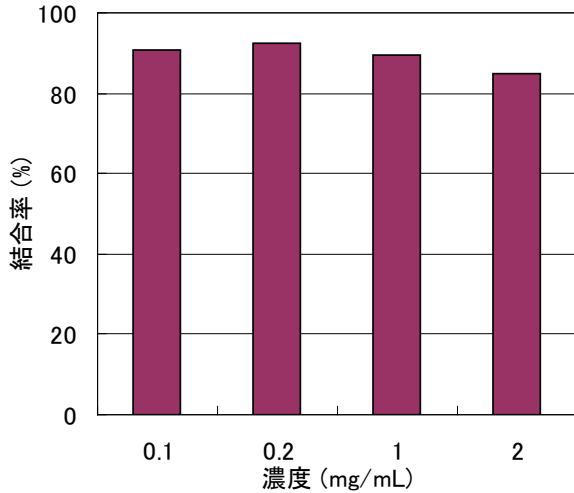
標準法



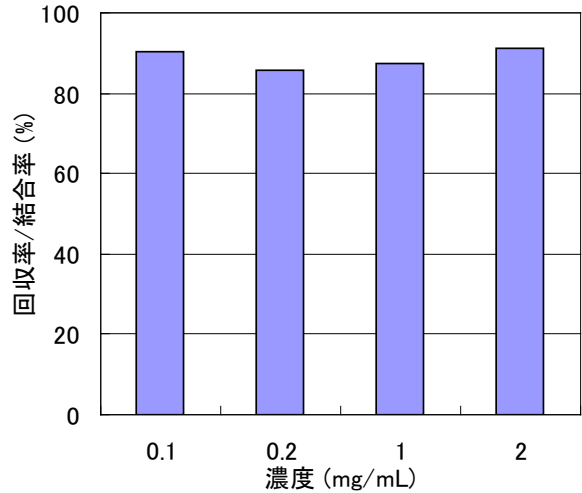
ヒト血清IgG の結合率と回収率

ヒト血清 IgG	結合率 (%)	回収率 (%)
0.1 mg/mL	90.6	81.9
0.2 mg/mL	92.4	79.2
1 mg/mL	89.4	78.2
2 mg/mL	85.0	77.5

添加濃度と結合率の比較



添加濃度と結合容量中での回収率比較



Ab-Rapid SPiN™ を用いた ヒト血清中 IgG1 の精製

操作の流れ

所要時間: 10分

標準法

ヒト血清 0.2mL
↓
PBS にて3倍希釈
↓
Ab-Rapid SPiN に添加
↓
反応 (4分間)
↓
洗浄 (PBS) × 3回
↓
0.1 M Glycine-HCl (pH 2.5) にて溶出
(1 M Tris を添加して中和)

所要時間: 65分

変法

ヒト血清 0.2mL
↓
PBS にて3倍希釈
↓
Ab-Rapid SPiN に添加
↓
反応 (1時間)
↓
洗浄 (PBS) × 3回
↓
0.1 M Glycine-HCl (pH 2.5) にて溶出
(1 M Tris を添加して中和)

ヒト血清中 IgG 精製量の比較

