

UniMab Anti-A & UniMab Anti-B
親和性クロマトグラフィー媒体

製品紹介

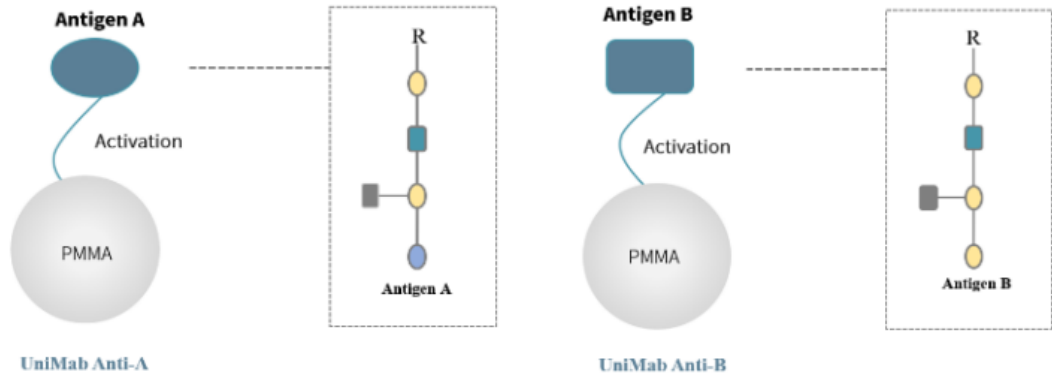
血液から抽出された免疫グロブリン（Ig）に微量のanti-Aおよびanti-B凝集素が含まれている場合、患者の溶血リスクを高める可能性があります。時には致命的な重篤な合併症を引き起こすことがあります。抗Aおよび抗B免疫グロブリンの二重クロマトグラフィーを使用することで、Ig中のA抗体およびB抗体を効果的に除去し、純度と安全性を大幅に向上させます。

UniMab Anti-AとUniMab Anti-Bは、最新に開発された2種類の異なる親和性クロマトグラフィー媒体であり、特に血漿由来のIg中の抗Aおよび抗B凝集素抗体を効果的に除去するために設計されています。この媒体は、単分散ポリメタクリル酸酯（PMMA）微粒子の表面に多糖抗原A/Bを結合させることで構成されています。この媒体には次の特徴があります。

- 高い結合容量、低いリガンド漏出、高い選択性により、クロマトグラフィー処理時間と媒体使用量が削減
- より高い親水性、より低い非特異的吸着により、回収率が向上し、使用寿命が延長
- 優れた酸・アルカリ安定性を持ち、0.5M NaOHで効果的な洗浄と消毒が可能で、経済性が向上し、生物負荷制御と安定性が改善

表 1. UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 技術仕様

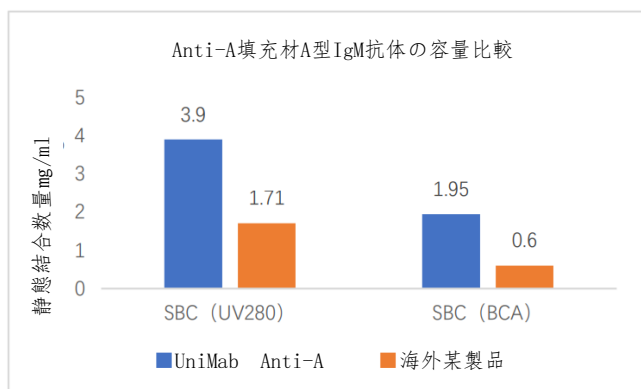
項目	UniMab Anti-A & UniMab Anti-B
基質	ポリメタクリル酸酯（PMMA）
粒径	約50μm
配基	多糖抗原 A/B
pH 範囲	2~12
最大耐圧	0.8 MPa
化学安定性	すべての通常の緩衝液、1M酢酸、1M塩酸、1M塩化ナトリウム、1M塩酸、70%エタノール、30%イソプロパノール、30%アセトニトリル、10% SDS、6M塩酸グアニジン、8M尿素、その他の有機溶媒に安定。強酸と強アルカリは避けてください。
保存液	20% エタノール



高い結合容量

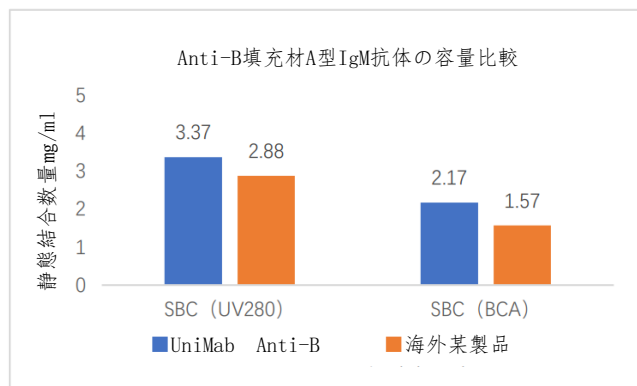
Anti-A 充填材料の静的結合容量比較実験

UniMab Anti-A 充填材料は、抗Aモノクローナル抗体の静的吸着容量が高いです。



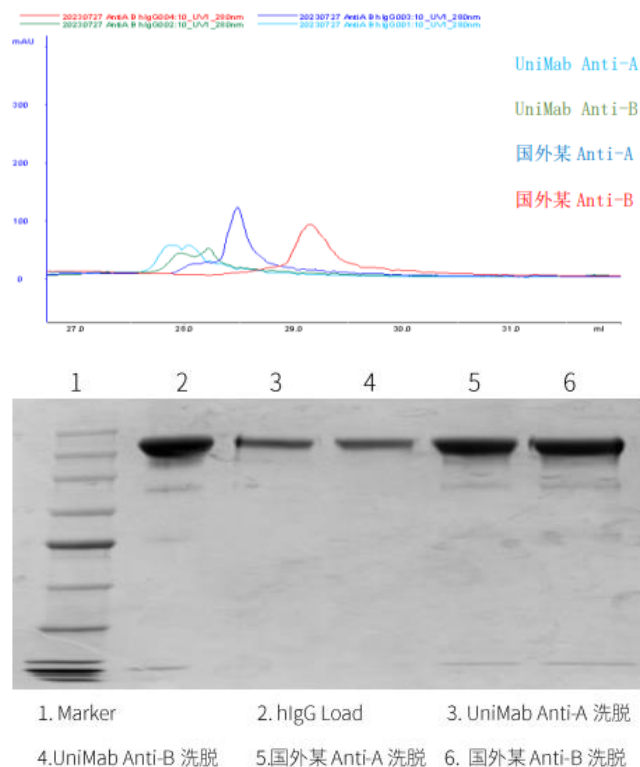
Anti-B 充填材料の静的容量比較実験

UniMab Anti-B 充填材料は、抗Bモノクローナル抗体の静的吸着容量が高いです。



高い親水性、低い非特異的吸着

UniMab Anti-A & UniMab Anti-B は、優れた親水性と低い非特異的吸着を特徴とし、より高い回収率と長い使用寿命を実現しています。



クロマトグラフィーカラムの充填

UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 製品は、20% エタノール中に保存されています。1.5 Kgのスラリー溶液は、1Lのカラム容積に相当します。推奨カラム充填用の流動相は0.1 M NaCl または純水であり、推奨充填係数は1.05～1.1です。UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 製品は高い機械強度を持つ「硬質ゲル」であり、低圧カラムおよび高圧カラムの両方に適しています。適切なカラムフィルターのマッシュサイズは10～23 μmです。充填手順は以下の通りです。

1. 必要なクロマトグラフィー媒体スラリーの量を計算する

必要なスラリーの質量 (kg) = 目標カラム容積 (L) × 1.5 kg/L × 1.05。

例えば、40 cm I.D. × 20 cm のカラムで25 Lのカラム容積の場合、必要なスラリーの質量は次の通りです。25 L × 1.5 kg/L × 1.05 = 39.375 kg。クロマトグラフィー媒体の量を正確に計量するためには、計量前にスラリーが均一に混合されていることが必要です（プラスチックスプーンを使用してスラリーをゆっくりと攪拌するか、50rpm以下の低速の機械で攪拌し、攪拌後のスラリーの静置時間が10分を超えないようにしてください。）。

2. カラム充填スラリーの準備

始めに、十分の0.1M NaCl（または純水）を用意し、これを充填溶液としてカラムを充填します。以下では、充填溶液は0.1 M NaCl（純水）を指します。

実験室規模の小型カラム（内径 ≤ 50 mm）

必要量の20%エタノールスラリー溶液を漏斗に移し、ろ過後にカラム容積の3倍の充填溶液を追加し、プラスチック棒でゆっくり攪拌してから再度ろ過します。この操作を2回繰り返して、カラム媒体中の20%エタノールが完全に充填溶液に置き換わるようにします。最後に、充填溶液を追加して、目標カラム容積の1.67〜2倍（スラリー濃度50%〜60%）になるようにします。

大カラム（内径 ≥ 50 mm）

必要な量の20%エタノールスラリー溶液をビーカーに入れて静置し、2時間後に上澄みを除去します（上澄みには多少の軽い濁りがある可能性があります）。その後、残りのスラリーを同量の充填溶液と混合します。スラリーをゆっくりと攪拌し、再び静置してから上澄みを除去します。この操作を2〜3回繰り返して、スラリー中のエタノールが完全に充填溶液に置き換わるようにします。最後に、充填溶液を追加して、目標カラム容積の1.67〜2倍（スラリー濃度50%〜60%）になるようにします。

注意：カラム充填スラリーの準備中は、媒体を押しつぶしたり摩擦させたりしないで、できるだけ柔らかく取り扱い、強磁性攪拌機や振動シェーカーは使用しないでください。また、機械攪拌棒は壁面に触れないようにします。もし、カラムが再充填を必要とする場合は、上記の方法に従って充填スラリーを準備してください。

3. カラム充填

● 流動充填

3-1) 上記のカラム媒体スラリーを均等に分散させ、カラムに移します。

3-2) 充填溶液を流動相としてカラム充填を開始します（充填開始時には流出液に一部濁りが観察されることがありますが、充填が1〜2CVを行った後によくなります）。

注意：充填の開始時には流速を高くしすぎないようにしてください。

3-3) カラムベッドが安定した後、流速を目標の最大流速に引き上げます（推奨最大使用流速の2倍まで、または目標カラム圧力に達するまで加圧します。推奨圧力は1.0 MPaを超えないこと。圧力は安定するまで20分間維持します）。

3-4) ピストンをゴム面から2〜3 mm以下の位置に調整します。

● 軸方向圧縮充填（内径 > 300 mm）

3-1) カラムを洗浄し、空気を抜きます。

3-2) スラリータンクとカラムを接続し、カラム内の余分な溶液を排出してから、ピストンをカラム下部プレートから5cmの位置まで下げます。

3-3) 供給弁を開け、ピストンを上方に移動させながら充填を行います。充填速度は200〜300 cm/hとします。スラリー濃度に基づいて充填量を決定し、ピストンの移動距離を計算します。供給弁を閉じ、ピストンを下方に移動させてカラムを圧縮します。圧縮速度は60〜100 cm/hとし、カラムベッドが完全に沈降し、カラムベッドの高さが増加しなくなったら、ピストンの移動を停止します。この時点で、1.05倍の縮小率に基づいてピストンの最終位置を計算します。
注意：スラリーが充填時に空気を巻き込まないように、一般的には計算された充填質量の120%以上の量にします。

カラム効率の評価

充填されたクロマトグラフィーカラムは、2 CV 0.5M NaCl溶液で平衡化し、100cm/hの流速でカラム効率テストを行います。詳細なテストデータは表2を参照してください。

表 2. UniMab Anti-A & UniMab Anti-B クロマトグラフィーカラムの効率テスト方法

項目	詳細
サンプル	2M NaCl
サンプル量	カラム容積の1〜5%
洗脱液	0.5 M NaCl
線速度	100 cm/h
検出	2M NaClサンプル: 導電率検出器
合格基準	As: 0.8-1.5; プレート数 (N/m): >1,500

使用方法

緩衝液推奨:

項目	詳細
平衡液	100mM 酢酸、pH5.5
洗脱液	0.1M グリシン、pH2.7
洗浄液	100mM 酢酸 + 0.5M NaCl、pH5.5
再生清洗	120mM リン酸 + 167mM 酢酸ナトリウム + 2.2% ベンジルアルコール (PAB) ; 0.5 M NaOH

クロマトグラフィー精製の手順

1，平衡

5CV以上の平衡緩衝液（100 mM Acetate, pH 5.5）でカラムを平衡化し、流出液の導電率とpHが変化しなくなることを確認します（平衡液と一致すること）。

2，サンプルのロード

5CV以上の平衡緩衝液（100 mM Acetate, pH 5.5）でカラムを平衡化し、流出液の導電率と pHが変化しないことを確認します（平衡液と一致すること）。固体サンプルは平衡液で溶解し、低濃度サンプル溶液は濃縮して高濃度サンプル溶液を平衡液で希釈します。分離中の凝集や膜の閉塞を避けるために、サンプルは十分にろ過処理を行ってください。サンプル量は、媒体の結合容量およびサンプル中の目標タンパク質含量に基づいて計算されます。サンプルをロードする際には、使用する結合容量緩衝液が平衡液とできるだけ一致するようにしてください。

3. 洗浄

平衡緩衝液または中間洗浄緩衝液（100mM 酢酸、0.5M NaCl、pH5.5）を使用して、カラムを洗浄します。

4. 洗脱

5CVの洗脱液（0.1M グリシン、pH2.7）を使用して、目的のタンパク質を洗脱します。

5. 再生清洗（CIP）

5-10CVの0.5M NaOH洗浄液またはPABに浸漬し、30-60 分間洗浄します。

注意：再生洗浄溶液中での長時間の気泡発生を避けてください。定期的なCIP洗浄は、媒体中にタンパク質や汚染物質の蓄積を防ぎ、カラムの結合容量、分離効果、流動特性を維持するのに役立ちます。汚染物質の種類に応じて、各プロセスに特定のCIP洗浄方法を設計する必要があります。

6. 再平衡

5-10CVの平衡液で洗浄し、ベースラインが平衡するまで行います。

保存

使用後のクロマトグラフィー媒体や再生が完了したカラムは、20%エタノールまたは2%ベンズアルコール溶液で密封して保存し、推奨保存温度は2-8℃です。エタノールの蒸発や微生物の成長を防ぐため、3ヶ月ごとに20%エタノール溶液を交換することを推奨します。

故障排除

もし、UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 親和性クロマトグラフィー製品の使用中に問題が発生した場合は、以下の表を参照して解決するか、または私たちにお問い合わせください。

現象	原因分析	対策提案
カラム 圧力上昇	流速が高すぎる	流速を下げる
	機器のオンライン フィルターが詰まっ ている	汚染物質を除去して洗浄する、またはフィルターを交換する。サンプルと緩衝液を使用前にフィルター処理する
	カラムベッドが圧縮 されている	カラムを再充填する
	カラムの使用期間が 長すぎる	新しいカラムに交換するか、カラム媒体を交換する
	ポンプと収集器の間の バルブが開いてい ない	出口を開く
カラム上の 沈殿物	疎水性タンパク質、 脂肪タンパク質、 または脂質の蓄積	非イオン性界面活性剤で洗浄（例：0.1% Tergitol 15-S-9 または Triton X-100 reduced/酸化還元剤）、0.5 M NaOH、または1 M 酢酸；その後、少なくともカラム体積の5倍の毒性除去フィルター緩衝液（pH 7-8）で洗浄
	タンパク質の変性による沈殿	カラム体積の2倍の50 mM NaOH、または50 mM NaOHと1.0 M NaCl、または0.1 M H3PO4、6 M 塩酸グアニジンと10 mM NaOHで洗浄；その後、少なくともカラム体積の5倍の毒性除去フィルター緩衝液（pH 7-8）で洗浄

UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 親和性クロマトグラフィー製品仕様書

製品型番	包装	品番
UniMab Anti-A	30 mL	17060-000001-2030
	50 mL	17060-000001-2050
	100 mL	17060-000001-2100
	300 mL	17060-000001-2300
	500 mL	17060-000001-2500
	1 L	17060-000001-1001
	5 L	17060-000001-1005
	10 L	17060-000001-1010
	50 L	17060-000001-1050
	100 L	17060-000001-1100
UniMab Anti-B	30 mL	17060-000002-2030
	50 mL	17060-000002-2050
	100 mL	17060-000002-2100
	300 mL	17060-000002-2300
	500 mL	17060-000002-2500
	1 L	17060-000002-1001
	5 L	17060-000002-1005
	10 L	17060-000002-1010
	50 L	17060-000002-1050
	100 L	17060-000002-1100

注記: 7.7 mm × 22 mm、16 mm × 25 mm、7.7 mm × 100 mm のクロマトグラフィー用カラムも提供可能です。その他の規格やカスタム製品については、お問い合わせください。