

UniMab ProtG
Protein G親和性クロマトグラフィー媒体

製品紹介

UniMab ProtG は、エポキシ活性化の方法で Protein G をポリメタクリル酸メチル（PMMA）基質に固定して製造された親和性クロマトグラフィー媒体です。Protein G はより広い範囲の結合スペクトルを持ち、抗体の Fc フラグメントと強力な結合を示すだけでなく、抗体の Fab フラグメントとも弱い相互作用を持ちます。このため、UniMab ProtG は、細胞培養物由来の抗体やそのフラグメントの分離・精製、ならびにさまざまな血清から他の抗体を分離するために使用されます。

表 1. UniMab ProtG Protein G 親和性クロマトグラフィー媒体の技術仕様

製品型番	UniMab ProtG
分離原理	Protein G 親和捕獲
基質	ポリメタクリル酸メチル（PMMA）
粒径	50 μm
配基結合方式	エポキシ活性化結合
動的結合容量	45-55 mg/mL⁻¹（人IgG, 4 min静置時間）
最大耐圧	0.8 MPa
CIP在位洗浄	6 M 塩酸グアニジン
推奨流速	100-500 cm/h
pH安定性	2～10
化学安定性	すべての通常緩衝液、20 mM 酢酸、1% SDS、6M 塩酸グアニジン、70%エタノール、6M 尿素などの有機溶剤；長時間の強酸や強塩基は避けてください
使用温度	2-40℃

表 2. Protein G の異なる種の抗体に対する相対親和性と結合能

種	Ig クラス	Protein G	種	Ig クラス	Protein G
マウス	Total IgG	++++	ラット	IgG1	+
	IgG1	++++		IgG2a	++++
	IgG2a	++++		IgG2b	++
	IgG2b	+++		IgG2c	++
	IgG3	+	ウサギ	Total IgG	+++
ヒト	Total IgG	++++	ロバ	Total IgG	++++
	IgG1	++++	ヒツジ	IgG1	++
	IgG2	++++		IgG2	+++
	IgG3	++++	ウシ	Total IgG	++++
	IgG4	++++		IgG1	++++
	Fab	++		IgG2	+++
ラット	Total IgG	+	鶏	Total IgG	+

操作案内

スラリー濃度測定

UniMab ProtG 親和性クロマトグラフィ媒体は、20%エタノール溶液に保存され、スラリー濃度（Cs）は約65%（w/v）です。スラリー濃度とはクロマトグラフィ媒体の恒定沈降体積が媒体全体積に対するの割合を指します。Csを正確に測定するために、クロマトグラフィ媒体をよく掻き混ぜてなら、10 mL のスラリーを試験管に移し一晩静置し、沈降後の体積 Vr を読み取ります。スラリー濃度 Cs の計算式は次の通りです。
 $Cs (\%) = 100 \times (Vr/10) = 10 \times Vr$ —式 1
最適なカラム充填結果を得るために、0.5 M NaCl 溶液でスラリー濃度を50-70%に調整することを推奨します。

媒体の前処理

1, カラム体積（Vc）の計算:

$Vc = h \times \pi r^2$ —式2
h: カラム長さ; r: カラム半径

2, 必要なスラリー量（Vs）の計算:

通常、クロマトグラフィ媒体は圧縮されると体積が減少します。最適な充填密度を得るため、スラリー量を多めに用意することを推奨します。圧縮比（CF）は通常 1.05-1.1 です。
 $Vs = 100 \times (Vc \times CF) / Cs$ —式3

3, 充填用スラリーの用意:

元の保存容器からクロマトグラフィ媒体を取り出し、必要なスラリー量を適切な容器に移し、静置して沈殿させた後、上澄みを除去します。次に、5倍体積の0.5M NaClで媒体を洗浄し、保存液を除去します。最後に、充填用スラリーの濃度を50-70%に調整します。

クロマトグラフィカラムの充填方法:

（NmXK 16/20 クロマトグラフィカラムの例）
1. カラム充填溶液を使用して、カラム末端部の接続部を素早く流し、気泡を取り除きます。その後、カラムの出口を閉じ、底部に1〜2 cmの充填溶液を残します。
2. 充填溶液を使用して、カラムヘッドの配管内の気泡を除去します。
3. 充填用スラリーを吊るして、ガラス棒等を使用してカラム内壁に沿って連続的に注入し、充填液でカラムの壁を洗浄しながらカラムを充填させます。次にカラムヘッドを取り付けます。操作中に気泡が入らないように注意してください。

4, カラムの底部の出口を開き、クロマトグラフィシステムポンプを起動させ、推奨される圧力範囲内で一定の流速または一定の圧力でカラムを加圧します。カラムベッドが安定した後、媒体と液の境界面にマークを付けます。
5, ポンプとカラム出口を閉じ、カラムヘッドの入口のパイプを緩め、マークした線の2-3 mm下までピストンを押し下げます。その後、カラムヘッド入口のパイプを締めます。

カラム効果の評価

充填したクロマトグラフィカラムをまず2 CVの0.5 M NaCl溶液で平衡化し、その後、2.0 M NaCl溶液を使用し、100 cm/hの流速でカラム効率を評価します。また、脱イオン水でカラムを平衡し、アセトン溶液を用いてテストを行うことも可能です。具体的な試験パラメーターについては表3を参照してください。

表3. UniMab ProtG クロマトグラフィカラムの効率試験条件

サンプル	5%（v/v）のアセトン水溶液 または2M NaCl
サンプル量	1〜5%カラム体積
流動相	脱イオン水または0.5 M NaCl
線速度	50〜200 cm/h
検出	5%アセトンサンプル: UV280 nm、 2M NaClサンプル: 電気伝導率計測
合格基準	As: 0.8〜1.5; Plates (N/m): >2500

使用方法

1, 洗浄および平衡化: 使用前に、順次洗脱液（例: 100 mM グリシン、pH3.0）および平衡液（例: 20 mM PB + 150 mM NaCl、pH 7.4）でカラムを洗浄および平衡化します。
2, サンプルのロード: サンプル量は最大で媒体（DBC10%）の0.8倍を超えないこと。
3, 洗浄: 5CV平衡液（例: 20 mM PB + 150 mM NaCl、pH7.4）でカラムを洗浄します。
4, 洗脱: 5CVの酸性溶液（例: 酢酸緩衝液、pH 3.0）でカラムを洗脱します。
5, 洗浄: 5CVの1M酢酸でカラムを清洗します。
6, 再生（Cleaning-in-place, CIP）: 3〜5 CVの6M塩酸でカラムを再生洗浄します。必要に応じて長時間の浸漬を行います。
7, 再平衡化: 5CVの平衡液（例: 20 mM PB + 150mM NaCl、pH7.4）でカラムを洗浄し、再平衡化します。

8、保存:使用終了後、まず純水でカラム内の緩衝塩を置換し、その後20%エタノールで保存します。

長期保存

媒体を20%エタノールで密閉して保存し、推奨保存温度は2～8℃です。エタノールの蒸発と微生物の繁殖を防ぐため、3か月ごとに20%エタノールを交換することをお勧めします。注意: 使用過程中、使用するサンプルおよび流動相は必ず0.45 μmのフィルターでろ過してください。

故障排除

もし、UniMab ProtG親和性クロマトグラフィ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）、70%エタノール、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1.0M NaCl、または0.1 M H ₃ PO ₄ 、6 M 塩酸グアニジン10分 間以上カラムを洗浄；その後、少なくともカラム体積の5倍の消毒濾過した結 合緩衝液（pH 7-8）で洗浄

Protein G親和性クロマトグラフィー媒体製品仕様書

製品型番	包装	品番
UniMab ProtG	30 mL	17015-050100-2030
UniMab ProtG	50 mL	17015-050100-2050
UniMab ProtG	100 mL	17015-050100-2100
UniMab ProtG	300 mL	17015-050100-2300
UniMab ProtG	500 mL	17015-050100-2500
UniMab ProtG	1 L	17015-050100-1001
UniMab ProtG	5 L	17015-050100-1005
UniMab ProtG	10 L	17015-050100-1010
UniMab ProtG	50 L	17015-050100-1050
UniMab ProtG	100 L	17015-050100-1100

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。

Protein G親和性クロマトグラフィー媒体製品仕様書

製品型番	包装	品番
UniMab ProtG	30 mL	17015-050100-2030
UniMab ProtG	50 mL	17015-050100-2050
UniMab ProtG	100 mL	17015-050100-2100
UniMab ProtG	300 mL	17015-050100-2300
UniMab ProtG	500 mL	17015-050100-2500
UniMab ProtG	1 L	17015-050100-1001
UniMab ProtG	5 L	17015-050100-1005
UniMab ProtG	10 L	17015-050100-1010
UniMab ProtG	50 L	17015-050100-1050
UniMab ProtG	100 L	17015-050100-1100

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。