

## ○アフィニティーカラムとしての使用方法 実施例

### 【カラムへの担持方法】

- ・使用するカラム

cytiva 社製 HiTrap<sup>TM</sup>NHS-activated HP (1 mL) など

- ・抗体精製用ペプチド

IgGBP-17A または IgGBP-Z34CA 1 mg

カップリング溶液 1 mL に溶かして使用 (以後、ペプチド溶液と表記)

- ・用意する溶液

カラム洗浄溶液	1 mM HCl
カップリング溶液	DMSO:3 M グアニジン塩酸塩:0.3 M NaHCO <sub>3</sub> =1:1:1
ブロッキング溶液	0.5 M モノエタノールアミン - 0.5 M NaCl (pH7.5)
洗浄溶液	0.1 M 酢酸ナトリウム- 0.5 M NaCl (pH4.0)
平衡化溶液	PBS

- ・手順

HiTrap<sup>TM</sup>NHS-activated HP (1 mL) に以下の順に、送液を行います。

- ↓ カラム洗浄溶液 5 mL [カラム洗浄]
  - ↓ ペプチド溶液 1 mL [ペプチド担持]
  - ↓ インキュベート 室温 3h
  - ↓ カップリング溶液 3 mL (ペプチドを含まない)で洗浄
  - ↓ ブロッキング溶液 6 mL [未反応の活性基をブロッキング]
  - ↓ 洗浄溶液 6 mL
  - ↓ ブロッキング溶液 6 mL
  - ↓ 洗浄溶液 6 mL
  - ↓ 平衡化溶液 3 mL [カラム洗浄]
- カラム作製完了

【抗体精製】

- ・使用するカラム

IgGBP-17A を 1 mg 担持した HiTrap™NHS-activated HP (1 mL) (IgGBP-17A カラム)

- ・サンプル液

ヒト血清を PBS 溶液 (pH7.0) で 5 倍希釈した溶液 5 mL

- ・用意する溶液

平衡化溶液                      PBS (pH7.0)

溶出溶液                        0.2 M グリシン塩酸バッファー (pH3.0)

送液システムにて、流速 1 mL/min で以下の順に送液を行います。(280nm の吸光度で IgG を検出)

IgGBP-17A カラム

↓ 平衡化溶液 10 mL

↓ サンプル 5 mL

↓ 平衡化溶液 15 mL

↓ 溶出溶液 10 mL

↓ 平衡化溶液 20 mL

精製完了