

# 【試薬・機器・容器 2007パートナーシップ広告】

## 無血清培地での抗体の生産・回収はこの組み合わせが最適です!!

★抗体生産:タイテック

★抗体回収:日本ポール

**TAITEC**



**タイテック株式会社**

哺乳類細胞用カスタムバイオシェーカーシリーズ

価格: ¥600,000~

- CO<sub>2</sub>制御下で哺乳類細胞を振とう培養可能
- スケール等に応じて培養機や容器を選択可能
- ・小容量:三角フラスコ
- ・大容量:培養バッグ(藤森工業株式会社にて開発中)
- 培養機や容器は従来法よりもメンテナンス容易

**PALL**



**日本ポール株式会社**

カラム担体 BioSeptra MEP HyperCel

価格: ¥14,000(5ml)~

- リーズナブルな価格(Protein Aの1/2~1/4)
- 高結合能(20~30mg IgG/ml以上)・高純度(90%以上)
- 低塩濃度による吸着でサンプルの脱塩/バッファー交換不要
- pH4.0での溶出で変性や凝集を抑制
- サブクラスや動物種の影響なし、リガンドの離脱なし
- 1M NaOHで洗浄可能

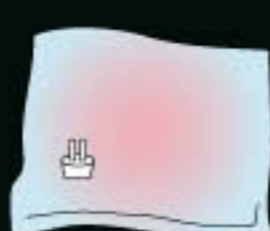
### 「抗体の生産・回収」の概要

ハイブリドーマの培養

クロマトグラフィープロセス

今回ご紹介する手法

三角フラスコor培養バッグでの振とう培養



培養液の上清をそのまま使用



MEP HyperCel (完了)



- ・ディスポによる操作の汎用性、培養前後のメンテフリー
- ・せん断力の防止による生産性向上

pH4.0でのマイルドな溶出  
IgGの変性や凝集を抑制

1 NaOHで簡単洗浄  
コンタミの問題解決・精製度アップ

研究用・診断薬レベルならば  
基本的に1ステップで回収・精製完了

従来法

ディッシュ等での静置培養orスピナーフラスコ培養



場合により濃縮や塩類添加

Protein Aの場合(pH2.0での溶出が必要)

イオン交換法の場合(3ステップ必要)

■生物材料・・・抗体産生ハイブリドーマ(fusion partner: P3UI、産生抗体:IgG2b)、無血清培地(Hybridoma-SFM、Gibco)、培養添加剤(BM-condimed、Roche)

日本ポール株式会社

■抗体キャプチャー用液体クロマトグラフィーカラム担体

●Biosepra MEP HyperCel [ 5ml:12035-069、25ml:12035-010、100ml:12035-028、1L以上もあり ]

1mlパックカラム  
近日発売

タイテック株式会社

■培養機・容器

●インキュベーターボックスM-280+インビトロシェーカーShake-LR、またはバイオシェーカーBR-3000LFに  
ガスコントローラーCO-GAS-1000+ガス分岐管を取り付けた培養機

デモ可能

※ディスコの三角フラスコおよび培養バッグについては、タイテックまでお問い合わせください。・・・tomita@taitec.org

操作フロー



実験データ

■実験データのご提供:お茶の水女子大学サイエンス&エデュケーションセンター 仲矢 史雄 先生

【概要】

プロテインAの代替可能な担体である、日本ポールのBioSeptraクロマトグラフィー担体"MEP HyperCel"を使用して、三角フラスコおよび培養バッグでの振とう培養によるハイブリドーマ無血清培養上清からIgG抗体を回収・精製し、その有用性を検証した。

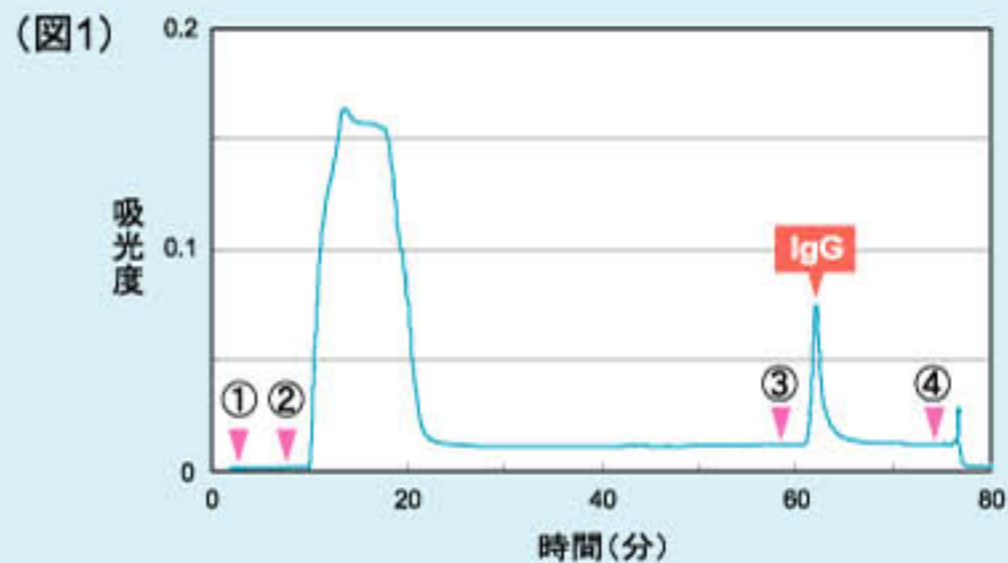
【結果】

ハイブリドーマの培養は、三角フラスコ・バッグ共に細胞播種時に $n \times 10^4$ 個/mlの濃度が1週間後の培養終了時には $n \times 10^6$ 個/mlとなり、通常の増殖効率を示した。この培養上清をMEP HyperCelを用いたFPLCにかけ、IgGを回収した。

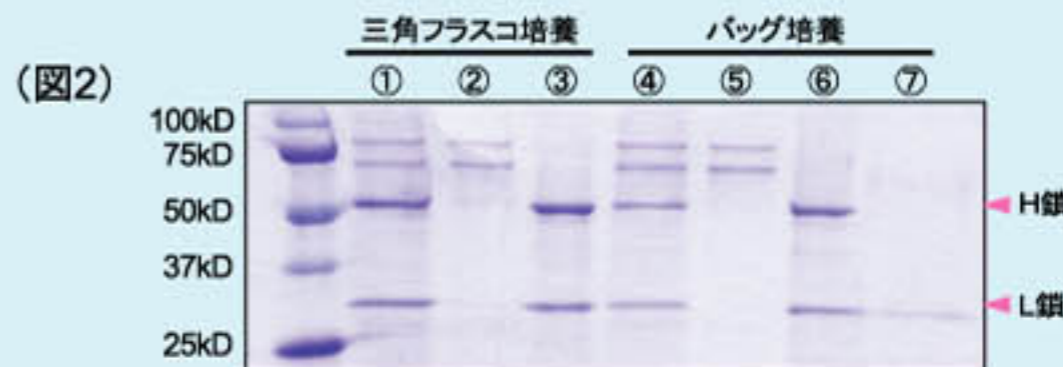
図1に280nm吸光度のクロマトグラムチャートを示す(三角フラスコとバッグでの違いはほとんどなかったため、前者のもののみ記載)。サンプル添加後、カラムに吸着されなかったタンパク質が溶出し大きなピークとなって現れた。pH8.0の50mMトリスで洗浄した後、pH4.0の酢酸ナトリウムによってカラムに吸着されていたタンパク質が溶出して2つ目のピークを示し、1M水酸化ナトリウム洗浄液中に3つ目のピークが現れた。

ピークから回収したサンプルのSDS-PAGE結果を図2に示す。オリジナルサンプルの泳動像には、4本のメジャーバンドが存在していた。このうち、50kD近傍のバンドがIgG重鎖、25kD近傍のバンドがIgG軽鎖である。カラム未吸着溶出液の泳動像には、75kD近傍の2本のバンドが見られたが、IgGは見られなかった。一方、抽出液の泳動像には、75kD近傍の2本のバンドは見られず、IgG重鎖、IgG軽鎖が見いだされた。IgGはカラムに充分吸着され、それ以外のタンパク質は吸着されることなく、MEP HyperCelによって目的とする抗体は効率よく分離されていた。

※実験方法の詳細や考察は、下記のサイトに掲載しております。ぜひご覧ください。



①サンプル添加 ②洗浄:50mM Tris-HCl pH8.0 ※クロマトグラムは三角フラスコ培養のものを掲載しています。  
③溶出:50mM NaOAc pH4.0 ④洗浄:1M NaOH



①オリジナルサンプル ②素通りのフラクション ③溶出したフラクション  
④オリジナルサンプル ⑤素通りのフラクション ⑥溶出したフラクション ⑦NaOH洗浄液

本紙記載の実験データについての詳細は

RESEARCH TOOL★JP

[実験の再現性]をコンセプトとする、研究者と支援産業のためのコミュニティサイトです。  
[http://www.researchtool.jp/]「実験データ」を是非ご参照ください。

培養.jp 姉妹サイト [http://www.baiyou.jp/]

●実験データはNPO法人サイコム・ジャパンの協力によって、第三者機関の検閲を経て公開されている情報です。安心してご活用ください。



タイテック株式会社 このチラシに関するお問合せは...

商品企画部 富田宛:〒343-0822 埼玉県越谷市西方2693-1

TEL048-988-8359 FAX048-988-8362 Email tomita@taitec.org