

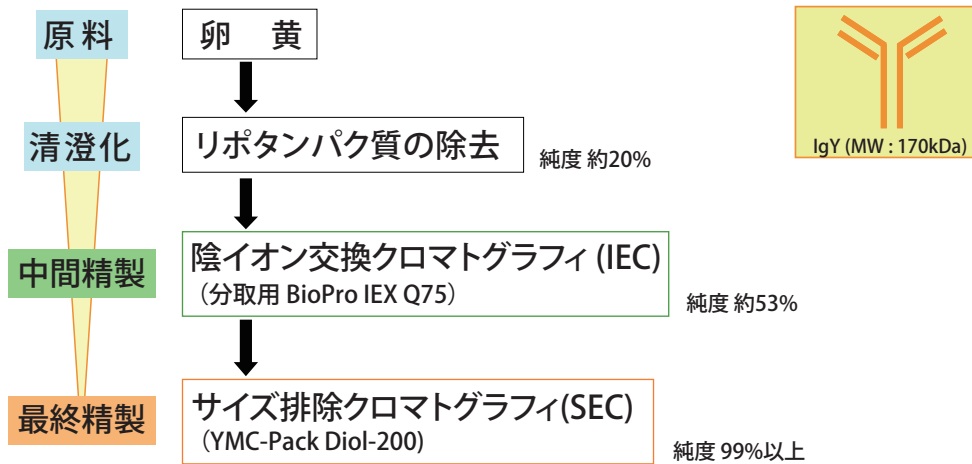
鶏卵抗体IgYの精製

A090915A

卵黄から得られる鶏卵抗体IgYは作製が比較的容易であることから、検査試薬や機能性素材としての免疫食品および医薬品への実用化が期待されています。その鶏卵抗体IgYについて、陰イオン交換充填剤のBioPro IEX Q75、サイズ排除(ゲルろ過)クロマトグラフィ用カラムのYMC-Pack Diol-200を組み合わせ、クルードサンプルから純度99%以上のIgYを精製した一例について紹介します。

精製に用いたBioPro IEXは、非特異的吸着が極めて小さい親水性ポリマーを基材としたイオン交換クロマトグラフィ用充填剤で、タンパク質と相互作用しやすい構造を有しています。そのため、動的吸着容量が高く初期精製から中間精製に有効な充填剤です。

IgYの精製手順

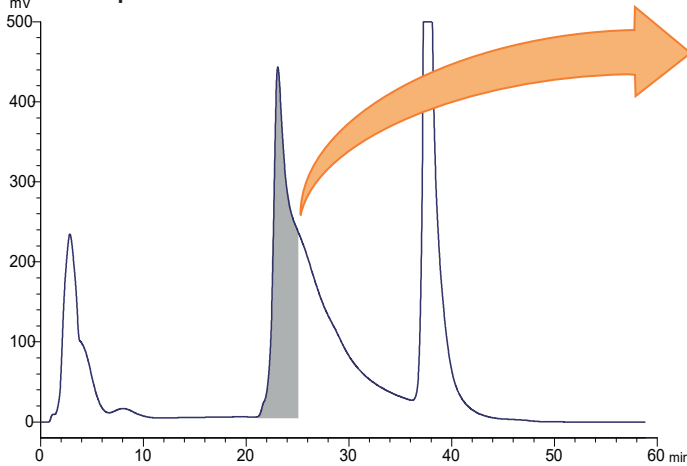


中間精製

陰イオン交換クロマトグラフィ BioPro IEX Q75

BioPro IEX Q75 75 μ m 50 X 4.6 mmI.D.

Sample: 清澄化した卵黄抽出物*



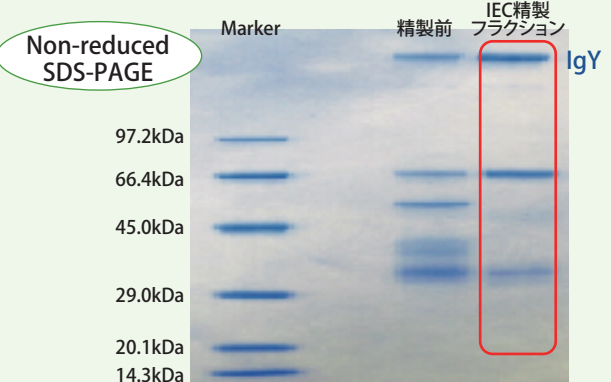
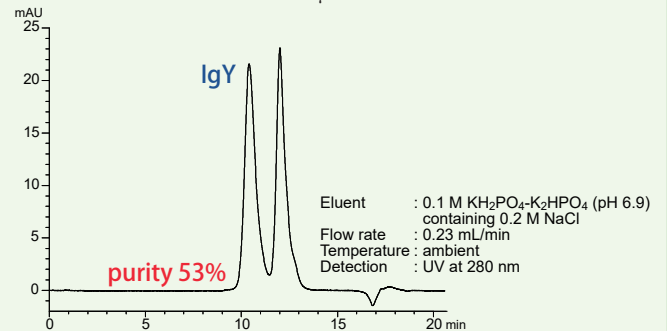
Eluent : A) 20 mM Tris-HCl (pH 8.1)
B) 20 mM Tris-HCl (pH 8.1) containing 0.5 M NaCl
10%B (0-15 min), 30%B (15-30 min), 90%B (30-40 min)
Flow rate : 0.5 mL/min
Temperature : ambient
Detection : UV at 280 nm
Injection : 1 mL (約20 mg Protein)

* Courtesy of Pharma Foods International Co., Ltd.

陰イオン交換充填剤 (BioPro IEX Q75) を用いて精製したクロマトグラムを示します。1回の精製でIgY純度約20%のクルードサンプルから純度約50%のIgYを精製することができます。

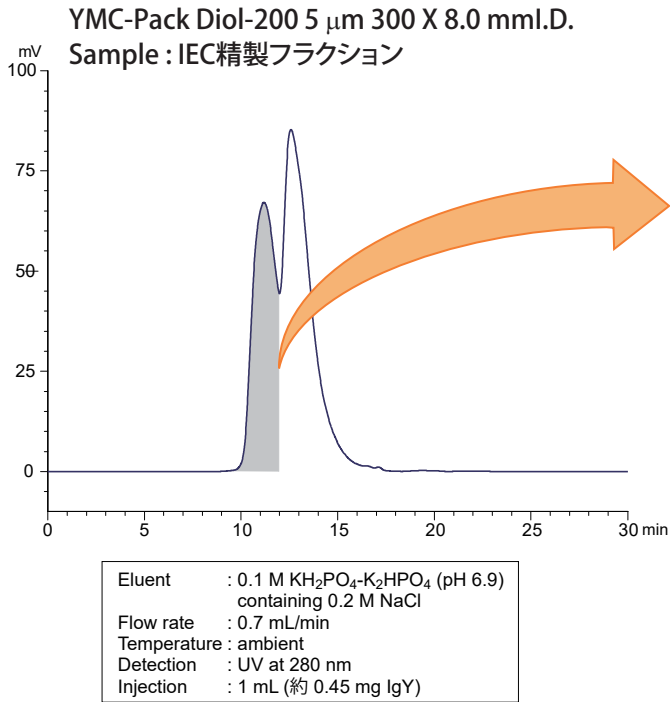
精製フラクション分析

YMC-Pack Diol-200 5 μ m 300 X 4.6 mmI.D.

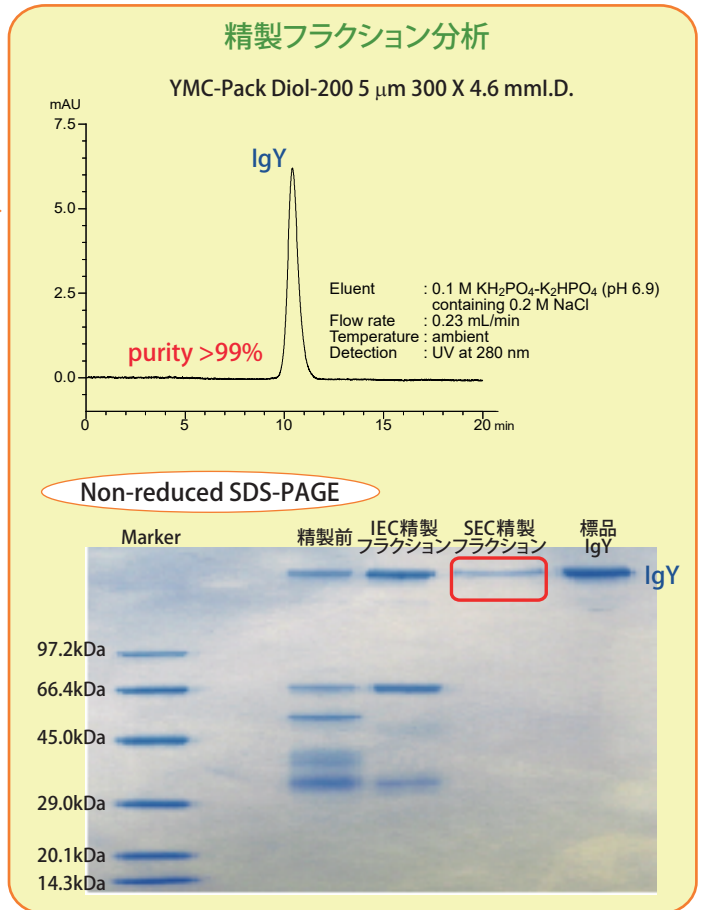


最終精製

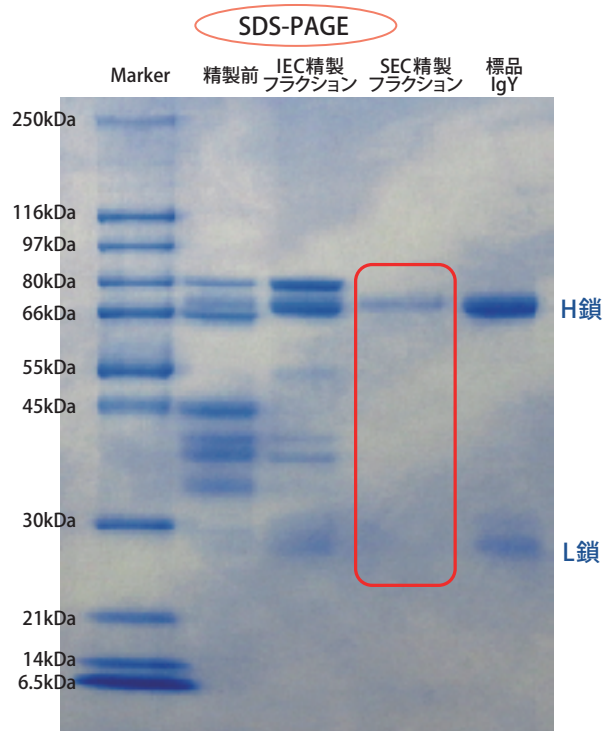
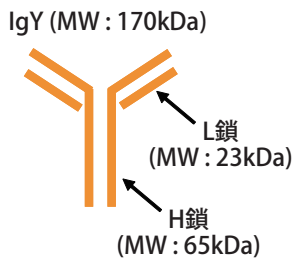
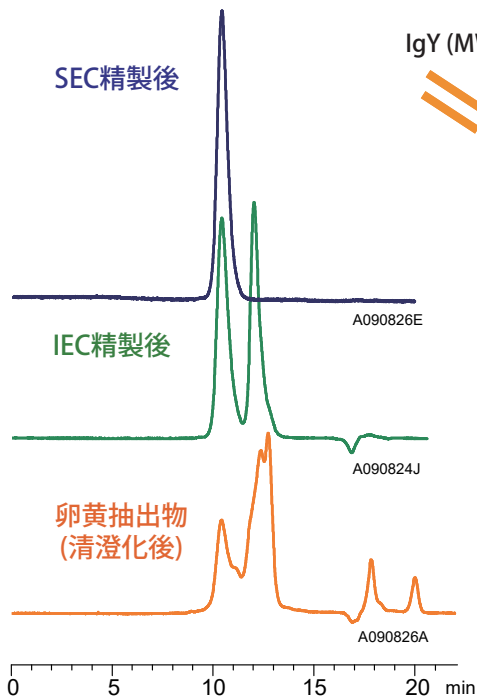
サイズ排除クロマトグラフィ YMC-Pack Diol-200



陰イオン交換充填剤 (BioPro IEX Q75)で精製したフラクションをゲルろ過カラムで最終精製することによって、高純度 (99%以上) のIgYを精製できます。



各ステップの分析



精製過程でのゲルろ過クロマトグラムとSDS-PAGEパターンを示します。各データから精製を進めるにつれ純度が向上し、また最終精製したフラクションのSDS-PAGEではIgY標品と同じく抗体のH鎖、L鎖由来のバンドのみとなっていることから高純度のIgYが得られていることがわかります。