精製用抗体ビーズの調製

腹水（251-A 液 IgG1）4 ml　　* mAb ~3 mg

エッペンドルフ遠心機
(3,500 rpm x 10 min)

supernatant

← 20 mM NaPi (pH 7.0) 8 ml

エッペンドルフ遠心機
(15,000 rpm x 20 min)

supernatant

Protein G Sepharose gel 1 ml
(4 Fast Flow GE Healthcare)

PD-10 カラムに充填
20 mM NaPi (pH 7.0)
wash 5 ml x 4-5 times　(EtOH の除去)

15 ml チューブに充填

4 ºC overnight（ゆっくり攪拌）

PD-10 カラムに充填
20 mM NaPi (pH 7.0)
wash 5 ml x 4-5 times　（非吸着タンパク質の除去）

0.2 M Na-borate (pH 9.0)
wash 5 ml x 3 times　（クロスリンクへの準備）

15 ml チューブに充填
gel + 8.5 ml 0.2 M Na brate (pH 9.0)

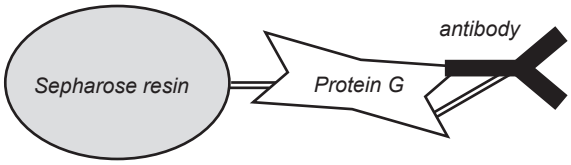
← 52 mg DMP in 1.5 ml 0.2 M Na-borate (pH 9.0)
(Sigma D8388; final 20 mM DMP)

RT. for 30 min（ゆっくり攪拌）

PD-10 カラムに充填

← 0.1 M Tris HCl (pH 8.0) for 2 hr
(7.5 ml washing every 30 min)　(DMP の不活性化)

← 0.1 M Glycine HCl (pH 2.7)
(2 ml washing x 2, quickly!!)　（未反応 IgG 除去）

← wash with PBS 5 ml x 5

(you can store the affinty resin at 4 ºC with azaide)