

## プロテイン G を積層固定した膜による抗体高効率精製

有明高専創造工学科 大河平紀司

株式会社坂本石灰工業所 深浦仁美

Nobuaki Tominaga, Tadashi Okobira (National Institute of Technology, Ariake College)

Hitomi Fukaura (Sakamoto Lime Industry Co, Ltd.)

### 1. はじめに

G 群溶血清連鎖球菌の細胞壁に存在するプロテイン G は、免疫グロブリンのうち特に IgG 抗体の Fc 領域と親和性が高いという特徴から、抗体のアフィニティー精製に幅広く利用されている。昨今のパンデミックにより、これらの機能材料のさらなる改良が求められている。そこで本研究では、基材にポリマーブラシを生成し、官能基を導入することで多様な機能を付与可能な改質手法である電子線グラフト重合法により、プロテイン G を多孔性中空糸膜に高密度に固定化することで、従来の基材より更に高効率に抗体精製が行える機能膜の開発を目指した。

### 2. 実験方法

グリンジルメタクリレートにてグラフト重合した膜を、エチレンジアミン溶液に浸漬させて EDA 膜を作製し、酸処理より残存エポキシ環を開環した後、グルタルアルデヒド(GA)溶液に浸漬させることで GA 膜を作製した。GA 膜に pH7.0 のリン酸緩衝液で調製したプロテイン G (組み替え体) 溶液を透過することで膜に固定した。プロテイン G 固定膜に pH7.0 のリン酸緩衝液にて調製したウサギ血清溶液を透過し、IgG 抗体を吸着させ、pH7.0 のリン酸緩衝液を透過することで物理吸着分を溶出させた後、pH2.2 のグリシン塩酸緩衝液を透過することで膜から IgG 抗体の回収を行った。血清溶液、リン酸緩衝液透過時の流速を、ペリスタポンプにて制御することにより、高流速に対するプロテイン G 固定膜の耐久性を評価した。また、精製後の IgG 抗体を平膜に固定化し、ウシ血清アルブ

ミン溶液にてブロッキング処理を行い、西洋ワサビペルオキシダーゼ標識プロテイン A、または HRP 標識二次抗体溶液に浸漬させ、発光基質もしくは染色基質を用いて、精製後の IgG 抗体の抗原認識能を評価した。

### 3. 結果と考察

作製したプロテイン G 固定膜の物性値を既製品と比較した結果、基材体積に対するプロテイン G の固定量は、最大で既製品の約 2.4 倍であり、ポリマーブラシの存在により、プロテイン G を材料に高密度に固定可能であることが示唆された。精製時の流速についても、既製品の約 6.7 倍の流速にて問題なく抗体精製が行え、基材体積に対する IgG 抗体の精製容量についても増加していることが確認された。精製時に必要な酸性緩衝液量も同程度であり、再利用性も確認されたことから、高効率化に成功したと言える。また、精製した IgG 抗体の抗原認識能を発光・発色操作にて確認した結果、精製後の IgG 抗体は抗原認識能を有していることが示唆された。

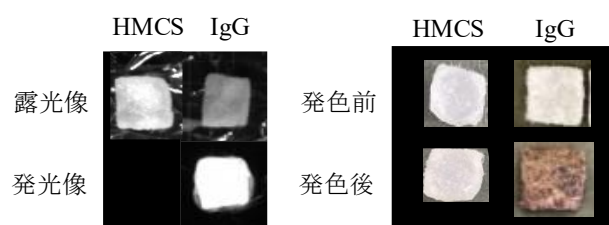


図1 精製した IgG 抗体による発光・発色結果  
【謝辞】

本研究は、有明広域産業技術振興会令和7年度地場産業振興支援研究によりご支援を頂きました。ここに記し深甚なる感謝の意を表します。