Bio-Monolith Protein G 컬럼 - mAb 적정농도(Titer) 측정을 위한 추가 옵션

응용 자료

생물 의약품 및 바이오시밀러

저자

Phu T. Duong
Agilent Technologies, Inc.

소개

최근에 단클론성 항체(mAb)는 다양한 질병 치료 요건에 부응하는 주요 바이오 의약품으로 떠오르고 있습니다. 특별한 유전자 설계를 통해 제조된 이러한 항체는 특정 유전자 구조를 가지며 병원체를 겨냥하는 능력이 훨씬 개선되었습니다. 항체 개발 과정에서, Protein A 및 G Analytical Affinity 컬럼을 사용하여 다양한 세포 배양 상청액에서의 항체 적정농도(titer)나 농도를 측정하여 고수율 클론 항체를 선별합니다. 비활성 Polymeric Monolith는 Protein A와 Protein G 컬럼의 담체로 사용됩니다. 두 컬럼 모두 높은 항체 친화성을 가지기 때문에 세포 배양 상청액 중의 항체와만 결합합니다. 그러나 표 1에 제시된 바와 같이 선택성에는 일정한 차이가 있습니다.

이 응용 자료에서는 Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼에 대해 소개합니다. 이 컬럼은 고속 및 높은 로딩 용량을 필요로 하는 분석을 위해 고안되었으며, 본문에서 제공한 데이터는 이 컬럼이 높은 특이성과 직선성을 가지고 있음을 보여줍니다. 직선성 분석 데이터는 컬럼이 세포 배양 상청액의 mAb를 정확하게 정량화할 수 있음을 보여주며, 사용 수명 분석 데이터는 컬럼의 높은 재현성, 긴 사용 수명, 뛰어난 안정성과 낮은 역압을 입증합니다. Bio-Monolith Protein G 컬럼은 Bio Monolith Protein A 컬럼의 보완 제품으로, 단클론성 항체의 적정농도(titer) 측정에 추가적인 옵션을 제공합니다.

표 1. 다양한 IgG 아강에 대한 Agilent Bio-Monolith Protein A 및 G의 결합 친화성[1,2]

항체	Protein A	Protein G
인간		
인간 IgG1	++++	++++
인간 IgG2	++++	++++
인간 IgG3	–	++++
인간 IgG4	++++	++++
인간 IgA	++	–
인간 IgD	++	–
인간 IgE	++	–
인간 IgM	++	–
생쥐		
생쥐 IgG1	+	++
생쥐 IgG2a	++++	++++
생쥐 IgG2b	++++	+++
생쥐 IgG3	+	+++
생쥐 IgM	+/–	–
항체 조각		
인간 Fab	+	+
인간 F(ab')2	+	+
인간 scFv	+	+
인간 Fc	+	+
인간 κ	+	+
인간 λ	+	+

++++ = 강한 친화성
+++ = 중간 친화성
++ = 약한 친화성
+ = 미세한 친화성
– = 친화성 없음

재료 및 방법

- 인산나트륨 일염기 일수화물(Sigma Aldrich, Corp., p/n S3522)(MW 137.99)
- 인산나트륨 이염기 이수화물(Sigma, p/n 71643) (MW 177.99)
- 시트르산 일수화물(Sigma, p/n C7129)(MW 210.14)
- 염화나트륨(Sigma, p/n S5886)(MW 58.44)
- 인산, H_2O에서 85 wt %, 99.99% 극미량 무기물 주성분 (Aldrich, p/n 345245)
- 수산화나트륨 용액, 물에서 50 ~ 52%, IC 용리액 (FLUKA 72064)(MW 40)
- 글리신(전기영동용), ≥99%(Sigma, p/n G8898) (MW 75.07)
- 빙초산(Sigma, p/n A9967)(MW 60.05)
- 염산, 36.5 ~ 38.0%, 생체시약, 분자 생물학용(Sigma, p/n H1758)
- *E.coli* 세포 용해 키트(Sigma p/n CB0500)
- 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 상청액 및 용해물, 곤충 세포 상청액, CHO 세포 유도 인간화 단클론성 항체 (IgG2 및 IgG3), CreativeBio Labs에서 구입

분석법

이동상 A는 결합 완충액이자 세척 완충액이며 인산나트륨 완충액 50mM(pH 7.4)을 포함하고 있습니다. 27.6g의 인산나트륨 일염기 일수화물과 35.6g의 인산나트륨 이염기 이수화물을 각각 1L의 탈이온수과 혼합하여 2가지 원액 (0.2M)을 제조합니다.

50mM 인산나트륨 완충액과 50mM 염화나트륨이 포함된 2L 인산나트륨(pH 7.0)을 제조하려면 다음과 같이 하십시오.

1. 195mL의 인산나트륨 일염기 일수화물 원액과 305mL의 인산나트륨 이염기 이수화물 원액을 혼합한 후 자력 교반기로 두 용액을 교반합니다.
2. 5.8g의 염화나트륨을 넣고 계속하여 교반합니다.
3. 1L 탈이온수를 추가합니다.
4. 용액의 pH를 측정하고 NaOH 또는 3M 인산을 이용해 pH 7.0으로 조절합니다.
5. 용액을 2L 용적 플라스크에 붓고 표시선까지 물을 추가합니다.

이동상 B(pH 2.0)는 0.1M 시트르산을 포함하는 용리 완충액이며, 21g 시트르산 일수화물을 600mL 가량의 물에 넣고 가볍게 저어서 용해시켜 제조했습니다. 1M 염화수소를 이용해 pH 2.0으로 조절한 다음, 1L 용적 플라스크에 옮기고 물로 표시선에 도달할 때까지 희석합니다.

CHO 세포 상청액, 용해물, 곤충 세포 상청액(모든 시료는 원심 분리를 거쳤음)과 인간화 단클론성 항체 IgG1, IgG2 및 IgG3은 뉴욕 CreativeBio Labs에서 구입했습니다. *E.coli* 용해물은 Sigma Aldrich, Corp의 권장 프로토콜에 따라 준비되었습니다[3]. 키트에는 CelLytic B, 박테리아 용해 시약(500mL), 리소자임 용액(10 × 1mL), 벤조나제 (25,000 단위) 및 단백질분해효소 억제제(5mL)가 포함되어 있습니다. 용해물은 1.0g의 세포판을 10mL CelLytic B 시약에 첨가한 후, 0.2mL 리소자임, 0.1mL 단백질분해효소 억제제 및 500 단위의 벤조나제를 추가하여 제조되었습니다. 혼합물을 10분 동안 간단히 교반혼합하여(손으로 또는 진탕기로) 가용성 단백질을 충분히 추출합니다. 그런 다음, 혼합물을 5,000rpm으로 10분 동안 원심 분리시켜 불용성 물질을 전부 침전시킵니다. 가용성 단백질 분획물(상청액)과 세포 찌꺼기(튜브 바닥에 가라앉는 침전물)를 조심스럽게 분리합니다. 상청액의 단백질 농도는 Bradford 단백질 분석법을 이용해 추정할 수 있습니다. 이 실험에서의 농도는 40mg/mL입니다.

그런 후에, 일부 상청액에 다음과 같이 IgG1, IgG2 또는 IgG3을 첨가합니다. 결합 완충액(또는 완충액 A)을 이용해 상청액의 최종 농도가 10mg/mL로 되도록 희석하며, 2mg/mL의 정제된 인간화 mAb(단클론성 항체)(예: IgG1, IgG2, 또는 IgG3)를 한 가지씩 첨가합니다.

분석 조건

컬럼:	Agilent Bio-Monolith Protein G, 직경 5.2mm, 길이 4.95mm(p/n 5190-6900)
결합 완충액:	A: 50mM 인산나트륨(pH 7.4)
용리 완충액:	B: 0.1M 시트르산(pH 2.0)
시료:	크로마토그램 참조
주입 부피:	크로마토그램 참조
유속:	1.0mL/분(또는 크로마토그램 참조)
기울기:	시간(분) % A 0 100 0.4 100 0.5 0 2.0 0 2.1 100 4.2 100
온도:	25 °C
검출기:	UV, 280nm
시스템:	Agilent 1260 Infinity Bio-inert Quaternary LC

결과 및 토의

특이성 및 선택성

표 1에 표시된 바와 같이, 여러가지 인간화 단클론성 항체 아강에 대한 Protein G 컬럼의 결합 친화성은 Protein A 컬럼보다 높으며 IgG3 아강은 Protein G 컬럼에 대해서만 친화성을 가집니다. 그림 1A의 데이터는 Bio-Monolith Protein G 컬럼의 특이성과 적정농도(titer) 모니터링 기능(즉, 상청액에서의 항체 존재를 확인하고 농도를 측정하는 성능)을 보여줍니다. 정제된 재조합 인간화 mAb인 IgG3(CHO 세포 상청액에 첨가됨)가 포함된 시료를 컬럼에 주입합니다. 이 mAb는 CHO 세포주에서 발현되었습니다. 데이터가 보여주듯이, IgG3은 컬럼에서 캡처되고 용리된 유일한 단백질이며, 1.0mL/분의 유속에서 약 1.6분에 확인됩니다. 반면에 모든 숙주 세포 단백질은 컬럼에 의해 캡처되지 않고 flow-through 피크에서 용리됩니다.

Protein A 컬럼과 Protein G 컬럼 사이의 선택성 차이를 보여주기 위해, 두 컬럼에 단클론성 항체 IgG1, IgG2 및 IgG3을 각각 주입합니다. IgG1과 IgG2는 두 가지 컬럼 모두에서 캡처되었지만(데이터는 표시되지 않음), IgG3은 Bio-Monolith Protein A에서 캡처되지 않았습니다. IgG3은 flow-through 피크에서 용리되었으며 Bio-Monolith Protein G 컬럼에 의해서만 캡처되고 용리됩니다(그림 1A와 1B 비교).

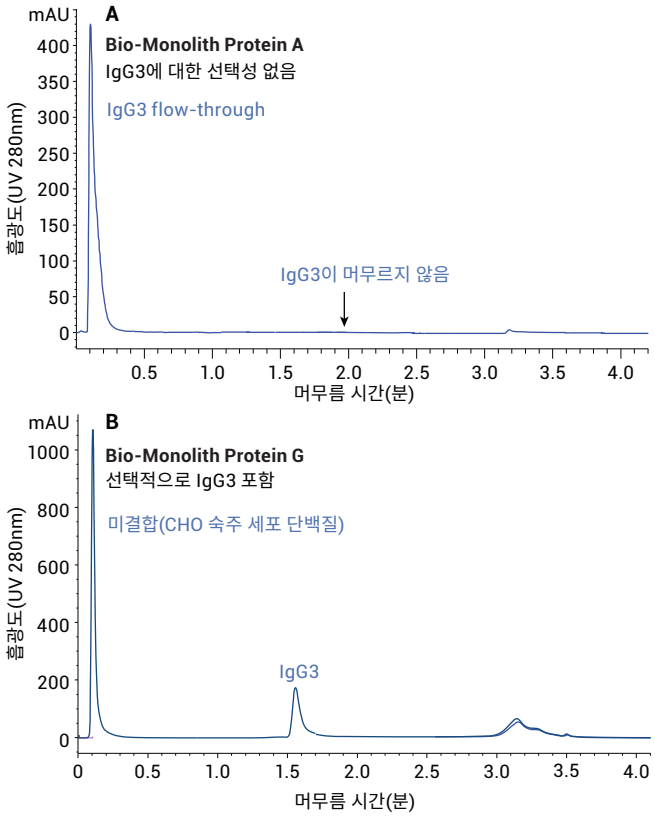

그림 1. A) IgG3은 Bio-Monolith Protein A 컬럼과 결합되지 않으며 IgG3은 flow-through 피크에서 용리되었습니다. 2mg/mL 인간화 IgG3를 결합 완충액과 혼합하였습니다(컬럼 주입 부피 3µL). B) Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼은 수집된 IgG3 첨가 세포 배양액에서 IgG3만 신속히 캡처했습니다(5µL의 2.0mg/mL IgG3과 10mg/mL CHO 세포 상청액을 혼합하여 컬럼에 주입함).

Bio-Monolith Protein G 컬럼의 특이성, 즉 컬럼이 숙주 세포 단백질에 대해 결합 친화성을 가지지 않았다는 것을 확인하기 위해 보다 확실한 테스트가 실시되었습니다. *E. coli* 세포 용해물, CHO 세포 용해물, 상청액 및 곤충 세포 용해물에서 추출한 숙주 세포 단백질 시료가 사용되었습니다. 이러한 용해물 중의 세포 단백질은 도데실 황산나트륨(sodium dodecyl sulfate)이 포함된 용해 완충액에 의해 추출되었으며, 도데실 황산나트륨은 컬럼의 비특이성 결합에 현격한 영향을 미칩니다. 이러한 시료에는 항체가 존재하지 않으며 오직 숙주 세포 단백질만 포함되어 있습니다. 이 테스트를 실시하는 이유는, 컬럼 설계가 합리적이지 않은 경우에 까다로운 시료를 분석 시 비특이적인 결과를 도출하기 때문입니다. 그림 2에서, 그 어떠한 숙주 세포 상청액에서 추출된 단백질도 컬럼에 흡착되지 않음을 볼 수 있습니다.

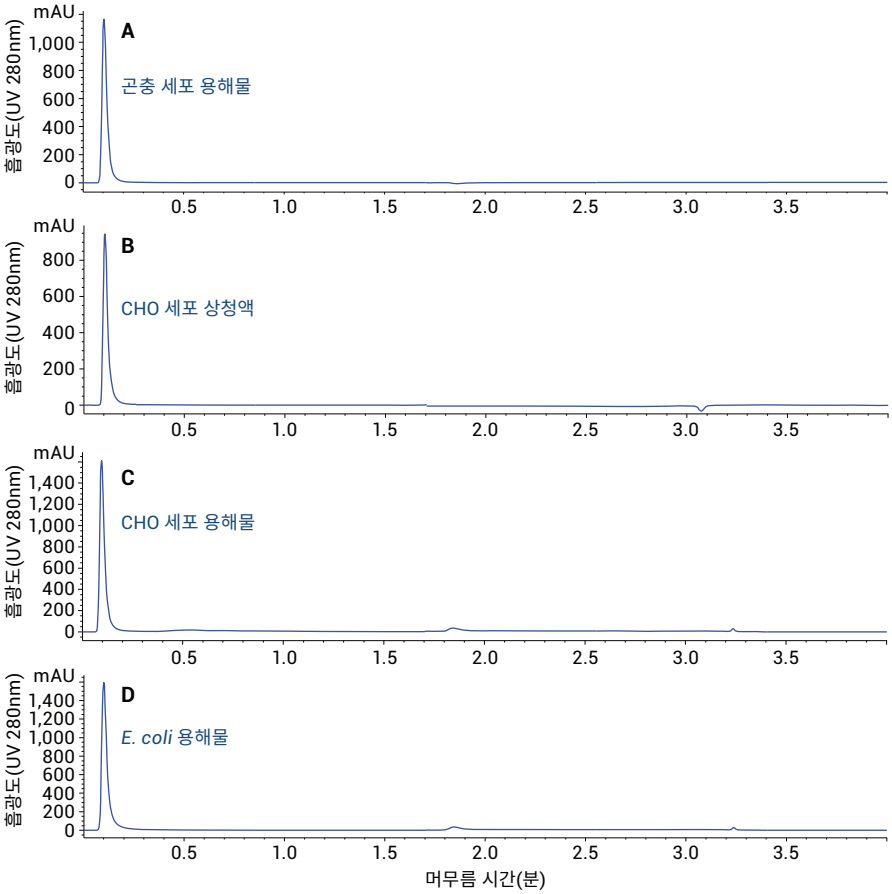

그림 2. Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼과 결합 완충액으로 희석된 10mg/mL 숙주 세포 단백질을 이용한 특이성 분석 모든 시료의 주입량은 5µL입니다. A) 곤충 세포 용해물, B) CHO 세포 상청액, C) CHO 세포 용해물, D) *E. Coli* 용해물

모든 숙주 세포 단백질은 flow through 피크에서 용리되었습니다. 이 데이터는 Bio-Monolith Protein G 컬럼이 숙주 세포 단백질에 대해 아무런 친화성을 가지지 않음을 보여줍니다.

정확한 정량 분석

세포주가 결정되는 개발초기단계에서, 생산 단계에서 세포 배양 상청액의 mAb 양이 최적의 수집 시기를 결정할 때, mAb 적정농도(titer)의 정확한 정량분석은 필수적입니다. Bio-Monolith Protein G 컬럼의 정확한 mAb 정량분석 성능을 입증하기 위해 다양한 양(µg)의 정제된 IgG를 컬럼에 주입하였습니다. 피크 면적 데이터와 생성된 IgG의 양을 이용하여 선형 회귀곡선을 그려 분석 정확도를 판단합니다. 그림 3은 Protein G 컬럼을 통해 얻은 피크 면적의 직선성을 보여줍니다. 이 데이터는 다양한 농도 범위에서 Protein G 컬럼을 사용하여 수집 세포 배양액 중 mAb를 정량화할 수 있음을 나타냅니다. 컬럼에는 최소 2µg의 IgG를 주입할 수 있으며, 주입량이 2µg일 경우, 신호대 잡음비는 1:1을

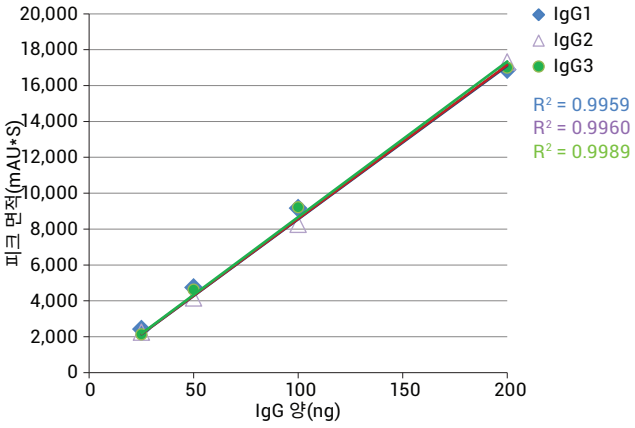

그림 3. Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼을 이용한 단클론성 항체 정량분석, 이 선형 회귀곡선에는 25 ~ 200µg IgG의 피크 면적 데이터가 포함됩니다.

초과하지 않았습니다(데이터는 표시되지 않음). 이 컬럼의 최대 로딩 용량은 약 400 ~ 500µg IgG이며(데이터는 표시되지 않음), 세포주 선택 및 생산 과정에서 도달할 수 있는 농도 범위를 모두 포함합니다.

다른 공급업체의 Protein G 컬럼보다 넓은 로딩 범위

그림 4A는 넓은 IgG3 로딩 범위에서의 Bio-Monolith Protein G 컬럼과 다른 공급업체의 Protein G 컬럼 (2.1× 30mm, 4,000Å)의 직선성 비교 결과를 보여줍니다. 애질런트 컬럼은 25 ~ 200µg IgG3의 선형 로딩 범위를 제공하는 반면에 다른 공급업체의 컬럼은 25 ~ 100µg IgG3 사이에서만 선형 데이터를 생성할 수 있었습니다 (해당 공급업체의 자료에서 제공한 권장 수치와 일치함). 높은 로딩 범위에서 선형성을 나타내지 않는 이유는 컬럼이 높은 로딩 범위에서 모든 물질을 머무르게 할 수 없기 때문입니다. 실제로 그림 4B에 표시된 것처럼 200µg 로딩 범위에서 다른 공급업체의 Protein G 컬럼은 mAb의 break-through 피크를 나타냅니다(일부 IgG3는 컬럼에 머무르지 않고 flow-through 피크에서 용리되었습니다).

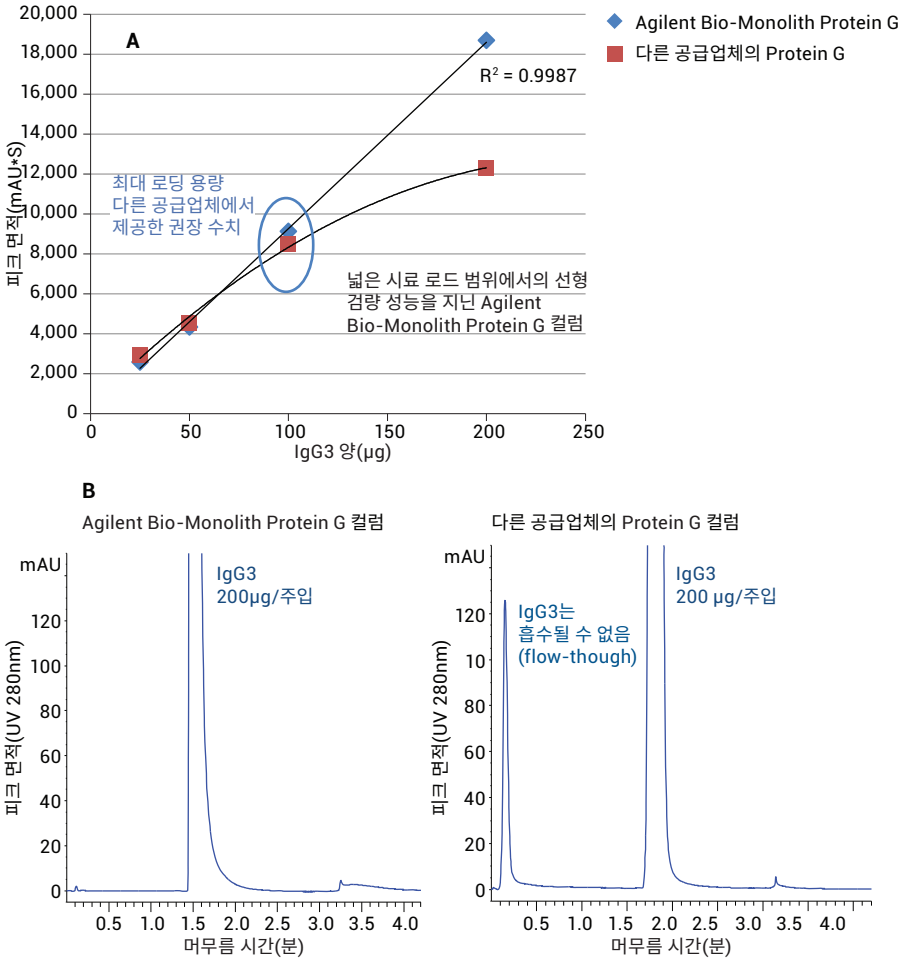

그림 4. A) Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼과 다른 공급업체의 Protein G 컬럼의 IgG3 선형 로딩 범위를 비교한 결과 B) 200µL를 로드할 경우 다른 공급업체의 컬럼은 Bio-Monolith Protein G에서 관찰되지 않은 flow-through 피크를 보입니다. 따라서 Bio-Monolith Protein G의 로딩 용량이 더 큽니다.

신속한 분리

Bio-Monolith Protein G는 신속한 분리를 위해 고안되었습니다. 그림 5에서는 1.0, 1.5, 2.0 및 2.5mL/분 유속에서의 IgG3 분석 결과를 통해 다양한 유속에서 나타내는 신속한 mAb 캡처 및 용리 성능을 증명하였습니다(컬럼은 최대 3.0mL/분의 유속에서 작동할 수 있습니다. 데이터는 표시되지 않음). 표 2는 유속과 작동 기울기를 보여줍니다. IgG3 피크의 머무름 시간은 유속이 증가함에 따라 감소되지만 각 유속에서의 상대적인 피크 면적은 비슷합니다. 이는 컬럼이 모든 유속에서 비슷한 회수율을 생성함을 의미합니다(표 3).

표 2. Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼의 머무름 능력 평가에 사용된 유속 및 작동 기울기

시간(분)	%A	%B
1.0 mL/min		
0	100	0
0.4	100	0
0.5	0	100
1.7	0	100
1.8	100	0
4.2	100	0
1.5 mL/min		
0	100	0
0.3	100	0
0.4	0	100
1.3	0	100
1.4	100	0
3.0	100	0
2.0 mL/min		
0	100	0
0.2	100	0
0.3	0	110
0.9	0	100
1.0	100	0
2.1	100	0
2.5 mL/min		
0	100	0
0.1	100	0
0.3	0	100
0.7	0	100
0.8	100	0
1.7	100	0

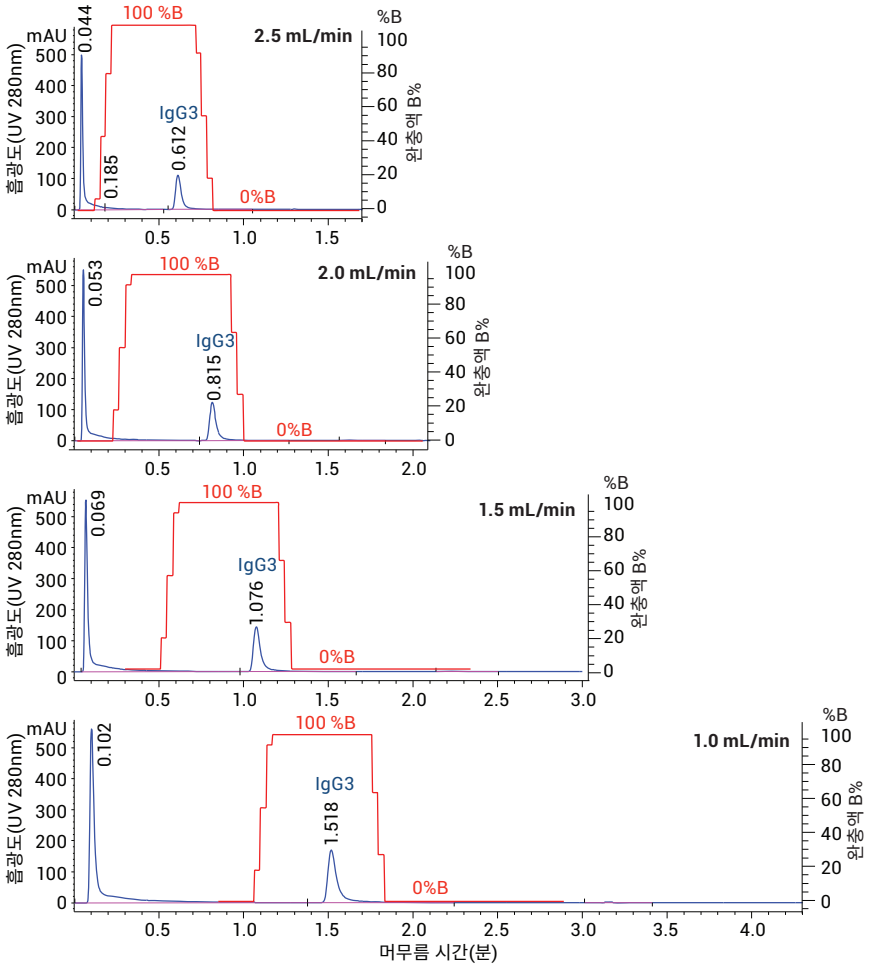

그림 5. 다양한 유속에서 Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼에 대한 IgG3의 결합 성능을 평가하였습니다. 주입 부피 5µL(5mg/mL CHO 숙주 세포 단백질과 2.0mg/mL IgG3을 혼합)

표 3. Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼은 모든 유속에서 유사한 flow-through 피크 대 IgG3 피크 상대적 비율을 제공합니다.

유속 (mL/분)	총 피크 면적 (mAuU*S)	Flow-through 피크 면적 (mAU*S)	Flow-through 피크 상대 면적 (%)	IgG3 피크 면적 (mAU*S)	IgG3 피크 상대 면적(%)
2.5	798	521	65.3	277	34.7
2.0	1,056	709	67.1	347	32.9
1.5	1,390	932	67.1	458	32.9
1.0	2,069	1392	67.3	677	32.7

그림 6은 컬럼 역압(backpressure)의 선형 회귀곡선을 보여줍니다. 컬럼 유속을 1 ~ 2.5mL/분 범위에서 0.5mL/분씩 증가시킬 경우 역압(backpressure)은 선형으로 증가합니다. 컬럼의 최대 역압(backpressure)은 150bar입니다. Bio-Monolith Protein G 컬럼의 일반적인 분리 유속은 1.0mL/분입니다. 기기 유속을 1.0mL/분으로 설정했을 때 컬럼 역압(backpressure)은 약 24bar이고 유속을 2.5mL/분으로 증가했을 때 컬럼 역압(backpressure)은 약 60bar로 증가합니다. 앞서 언급한 바와 같이, 역압(backpressure)이 최대치에 도달할 때 컬럼에 대한 IgG 결합의 영향이 제일 적습니다.

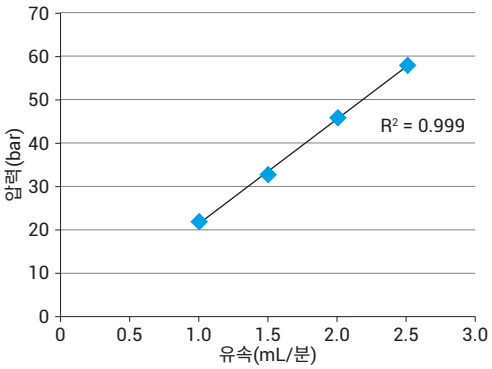

그림 6. 유속 대 역압(backpressure). Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼의 유속이 선형으로 증가할 때 역압(backpressure) 역시 선형으로 증가합니다.

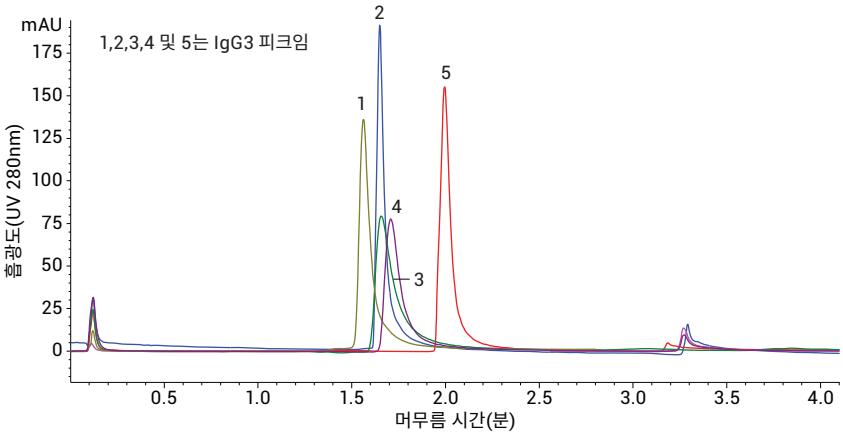

그림 7. Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼에서 다양한 산성 용리액에 의해 용리된 인간화 IgG3 피크

다양한 용리 완충액의 호환성

그림 7은 Bio-Monolith Protein G 컬럼에 대한 다양한 용리 완충액과의 호환성을 보여줍니다. IgG3 피크는 다양한 산성 용리액에 의해 용리될 수 있습니다. 표 4는 산성 용리액의 세기와 pH를 보여줍니다. 12mM 염화수소를 제외한 이러한 용리액은 비슷한 머무름 시간으로 컬럼에서 IgG3를 용리할 수 있습니다(다른 IgG에 대해서도 비슷한 데이터가 관찰되었음). 12mM 염화수소에 의해 용리된 IgG3 피크의 머무름 시간은 다른 용리 완충액에 의해 용리된 IgG3 피크의 머무름 시간보다 깁니다. 농도가 0.1M으로 증가했을 때, 이 용리 완충액은 다른 용리 완충액과 유사한 머무름 시간으로 IgG3를 용리하기에 충분한 세기를 획득합니다.

주목할 만한 것은, 각 산성 용리액이 생성한 IgG3 피크에 약간의 피크 폭과 테일링 인자 차이가 있다는 점입니다. 이는 IgG가 다름에 따라 머무름 시간, 피크 폭과 테일링 인자에 대한 산성 용리액 및 그 세기의 영향에 일정한 차이가 있음을 의미합니다. 따라서 IgG 및 데이터의 기대치에 근거하여 그리고 실험에 의거하여 산성 용리액 및 그 농도를 결정해야 합니다.

표 4. IgG에 대한 다양한 산성 용리액의 호환성과 영향

피크 번호	산	PW	5% TF	1 mL/분에서의 압력(bar)
1	0.1M 시트르산(pH 2.0)	0.058	1.68	24
2	0.1M 염화수소	0.053	1.58	24
3	5% 아세트산	0.071	1.85	24
4	0.1M 글리신	0.075	1.82	24
5	12mM 염화수소	0.068	1.69	24

clean-in-place(CIP) 후 컬럼 성능의 회복

그림 8은 Bio-Monolith Protein G 컬럼이 clean-in-place (CIP) 후 성능을 완전히 회복할 수 있음을 보여줍니다. IgG3를 첨가한 CHO 세포 상청액과 용해물을 1,000회 이상 주입한 후, IgG3을 컬럼에 주입하였습니다. 데이터는 컬럼이 오염되었을 때 IgG3의 피크 폭이 넓어지고 피크 높이가 낮아졌음을 보여줍니다(clean-in-place(CIP) 전후를 비교하는 그림 8A와 8B). 또한 일부 IgG3가 컬럼에 의해 캡처되지 않고 flow-through에서 용리되었음을 보여주기도 합니다(그림 8, 패널 A). 컬럼이 세척된 후 모든 성능을 다시 회복하며 IgG3가 완전히 캡처됩니다(그림 8B 참조). 그림 9는 컬럼이 적절히 세척되기 전후에 넓은 로딩 측정 범위(dynamic range)에서 측정한 직선성 비교 데이터를 보여줍니다. CIP 전후의 IgG3 면적은 매우 유사했으며 직선성도 아주 뛰어납니다. 이 데이터는 컬럼이 효과적으로 세척되었고 표 5에 나오는 세척 프로토콜에 적합함을 보여줍니다.

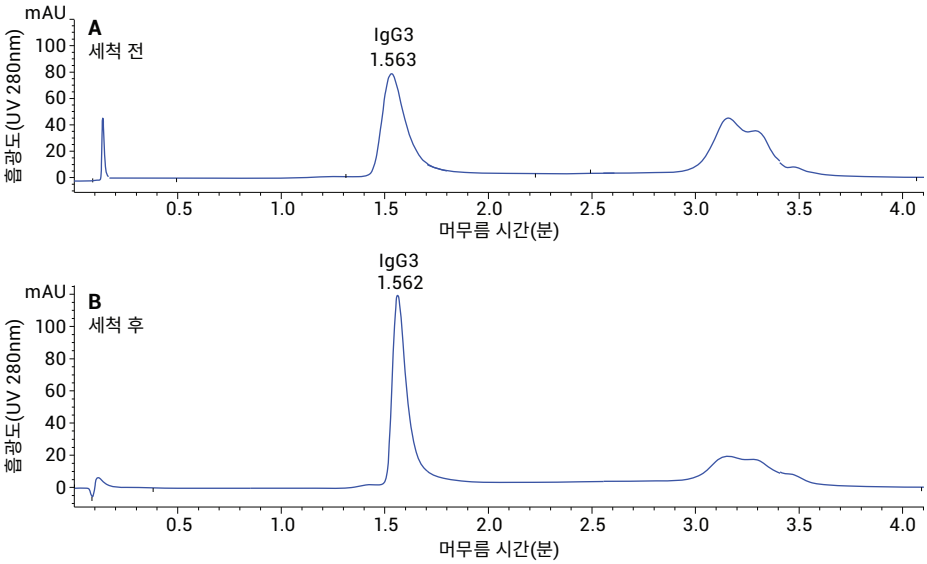

그림 8. A) 1000회 이상의 주입 후 Agilent Bio-Monolith Protein G에 IgG3 주입한 결과 컬럼이 오염되었습니다. B) 컬럼을 세척하고나니 성능을 완전히 회복했습니다.

표 5. Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼에 대한 clean-in-place(CIP) 프로토콜. 오염물질이 컬럼의 나머지 부분에 들어가지 않도록, 프로토콜의 첫 단계에서 0.2 ~ 0.5 mL/분의 유속으로 컬럼을 백플러시해야 합니다.

단계	용액	컬럼 세척 부피(CV)
1	0.1 M 수산화나트륨	10 ~ 20
2	탈이온수	10 ~ 20
3	0.5M 인산나트륨 완충액(pH 7.4)	10 ~ 20
4	결합 완충액으로 컬럼을 재평형화	50

Monolithic 컬럼의 간단한 재생만으로는 충분하지 않은 경우가 있습니다. 시료 분자가 컬럼으로부터 완전히 용리되지 않거나 컬럼 내에 침전될 수 있습니다. 이렇게 컬럼 내에 오염물질이 축적되면 분리능과 결합 능력이 떨어지고 역압(backpressure)이 증가하거나 컬럼이 완전히 막힐 수 있습니다. 그리하여 시료에 존재하는 오염물질의 유형에 따라 특정 CIP 프로토콜을 작성해야 합니다. 컬럼 재생에 대한 자세한 내용은 사용자 안내서를 참조하시기 바랍니다.

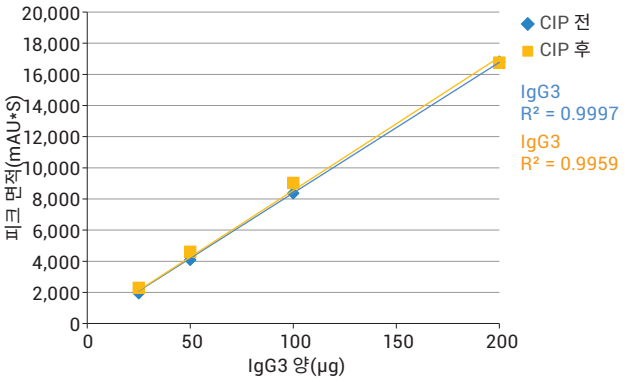

그림 9. 넓은 로딩 측정 범위(dynamic range)에서 측정한 Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼의 clean-in-place(CIP) 전후 직선성의 비교

사용 수명 및 재현성

그림 10과 11은 Bio-Monolith Protein G 컬럼에 IgG3, CHO 세포 상청액 및 용해물을 1,000회 연속 주입했을 때의 결과를 보여줍니다. 컬럼에 CHO 세포 상청액과 용해물을 40회 주입한 후 IgG3을 10회 주입했습니다. 세척을 위해 이 시퀀스를 중단 없는 1,000회 연속 주입으로 설정합니다. IgG3의 피크 머무름 시간 및 피크 면적의 완전성(그림 9)과 피크 테일링 인자 및 피크 폭(그림 10)은 거의 변함이 없으며 컬럼의 결합, 분리 및 용리 능력에 거의 영향을 미치지 않습니다.

그림 11은 1,000회 주입 연구 동안에 피크 폭과 테일링 인자에 대한 영향이 극히 적음을 보여줍니다.

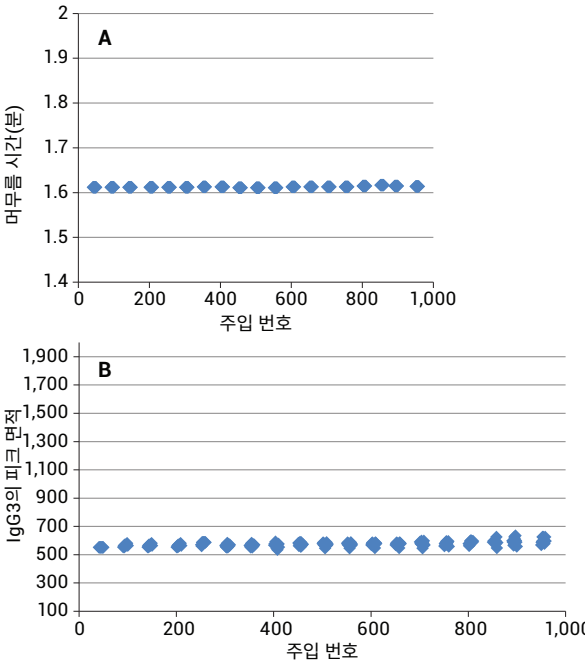

그림 10. clean-in-place(CIP) 없이 1,000회 이상 주입한 후의 Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼의 재현성 A) 머무름 시간 B) IgG3의 피크 면적, 매 40회 주입 후의 10회 주입을 기록하며 1,000회 이상 주입을 반복합니다. IgG3의 머무름 시간과 피크 폭은 변하지 않았습니다(표준 편차 = 2.5, n = 100).

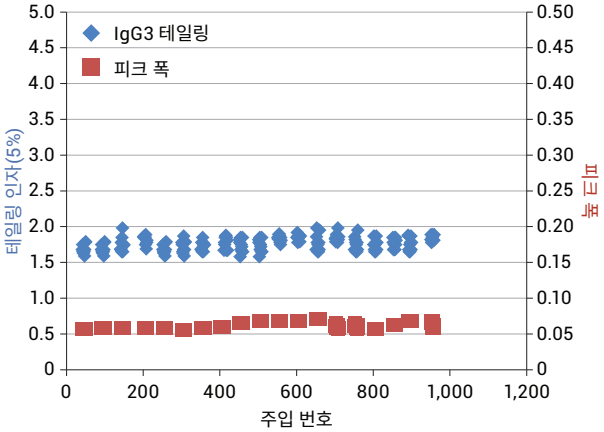

그림 11. Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼에서 1,000회 이상 주입을 반복한 후 나타내는 IgG3 피크의 피크 폭과 테일링 인자의 일관성

결론

Agilent Bio-Monolith Protein G 컬럼은 단클론성 항체 아강에 대해 높은 친화성을 가지며, 다양한 로딩 선형 범위에서 상청액 중 mAb를 캡처하고 정확하게 정량화할 수 있음이 밝혀졌습니다. 이 컬럼은 다양한 유속에서 고품질의 데이터를 유지하면서 효과적으로 단클론성 항체를 정량화할 수 있습니다. 작동 역압(backpressure)은 상당히 낮으며, 이는 Bio-Monolith Protein G 컬럼을 600bar 이하의 HPLC 기기에서 작동할 수 있음을 나타냅니다. 다양한 산성 용리액을 이용할 수 있는 컬럼의 유연성으로 인해 쉽고 간단하게 실험을 설계할 수 있습니다. Agilent Bio-Monolith Protein A 컬럼과 Protein G 컬럼은 서로 보완적이기에, Protein G 컬럼은 Protein A 컬럼과 결합되지 않는 mAbs에 대해 친화성을 가지고 Protein A 컬럼은 Protein G 컬럼과 결합되지 않는 mAbs에 대해 친화성을 가집니다. 이러한 컬럼은 다양한 범위에서 신속하게 mAb 변이체의 적정농도(titer)를 측정할 수 있는 추가 옵션을 제공합니다.

참조 문헌

1. Richman, D. D.; Cleveland, P. H.; Oxman, M. N.; Johnson, K. M. The binding of 1. Staphylococci protein A by the sera of different animal species. *J. Immunol*. **1982**, *128*, 2300-2305.
2. Frank, M. B. Antibody Binding to Protein A and Protein G beads; 5. In *Molecular Biology Protocols*; Frank, M. B., Ed.; Oklahoma Medical Research Foundation, Oklahoma City, USA, **1997**.
3. Anon. CelLytic B Plus Kit. Catalog numbers CB0500 and CB0050. Technical Bulletin. Sigma-Aldrich, Corp. St. Louis, MO, USA.

추가 정보

이러한 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다. 애질런트 제품 및 서비스에 대한 더 자세한 정보는 애질런트 웹사이트 www.agilent.com/chem에서 확인하실 수 있습니다.

www.agilent.com/chem

연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하실 수 없습니다.

애질런트는 이 문서에 포함된 오류나 이 문서의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2018

한국에서 발행
2018년 7월 6일
5991-6094KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr

Agilent Technologies