

ゲルろ過クロマトグラフィー充填剤

セルファイン GH-25

テクニカルデータシート



JNC 株式会社

ライフケミカル事業部

東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号

TEL : 03-3243-6150 Fax : 3-3243-6219

e メールアドレス: cellufine@jnc-corp.co.jp

ホームページアドレス: <http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>

タンパク質の脱塩バッファーへの迅速な交換と、アルコールや洗剤の除去などに

セルファイン GH-25 は、多孔性で球形の高度に架橋されたセルロース粒子をベース担体に行っています。3kD の排除限界分子量によって、タンパク質は担体の細孔内部に入らずカラムを通過していきます。一方で、塩などの小さな分子は担体の細孔内部に入るため、遅れて溶出してきます。優れた機械的強度によって、大型のプロセススケールカラムでも高流速で操作が可能のため、分析時間を最小限に抑えることができます。

特徴

- ・ 物理的な堅牢性が高く、真球状の粒子です。
- ・ 効果的に塩を除去できます。
- ・ 親水性です。
- ・ 膨潤された状態の製品のため、すぐにご使用頂けます。
- ・ pH 1 - 14 で安定しています。酸アルカリ耐性 (0.1M HCl、0.5M NaOH) があります。
- ・ 有機溶媒に耐性があります。
- ・ オートクレーブが使用できます (121 ° C, 30 分)。

利点

- ・ 高流速で使用できますので、サイクルタイムの短縮化が図れます。
- ・ 大量のサンプル負荷を可能にします。
1 ml ~ 100 L のカラムで 5 ~ 30 分のリードタイム、最大 35% のベッド体積の負荷が可能。
- ・ 非特異的吸着が少なく、高い回収率を示します。
- ・ 簡単にカラム充填ができます。
- ・ 簡単にカラムを洗浄できます。またパイロジェン等の発熱物質も簡単に除去できます。
- ・ 収縮や膨潤せず、一般的に使用されているすべての溶媒とバッファーを使用できます。
- ・ オートクレーブ滅菌が可能です。

| 特徴 | |
|------------|---|
| 担体 | 真球状のセルロース |
| 粒径 | ca. 40 - 130 μm |
| 排除限界分子量 | 3kD |
| 効率と繰り返し使用性 | 回収率 98 % ~ 100 % 1000 サイクル後 (250 日間使用) に劣化なし。 |
| オートクレーブ | 121 ° C, 30 分 |
| 耐圧性 | 大型カラムで 870 cm/h の流速で使用した場合において粒子の崩壊は見られない。 |
| pH 安定性 | pH 1 - 14 |
| 化学安定性 | 界面活性剤や溶出液に対して耐性がある。 0.1M HCl または 0.1M NaOH で 30 日後も変化なし。 |
| 保存液 | 20 % エタノール、スラリー状で保存 |

流速特性

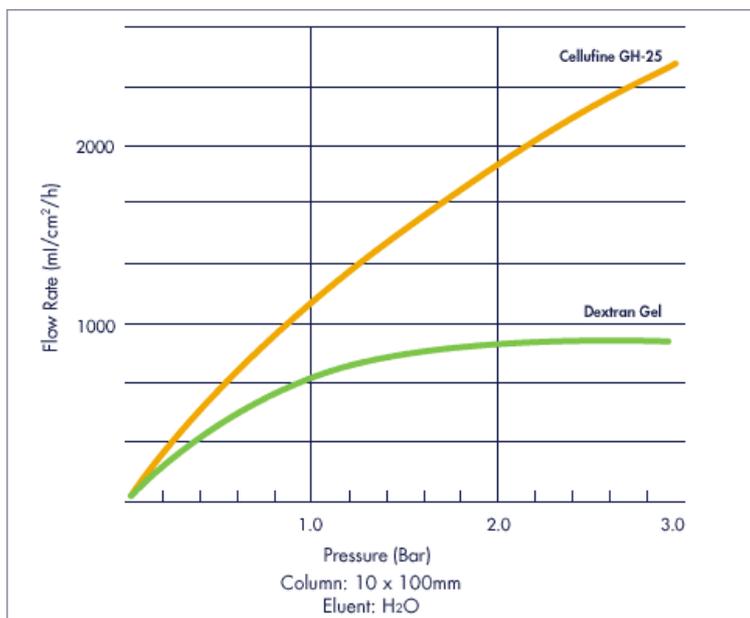
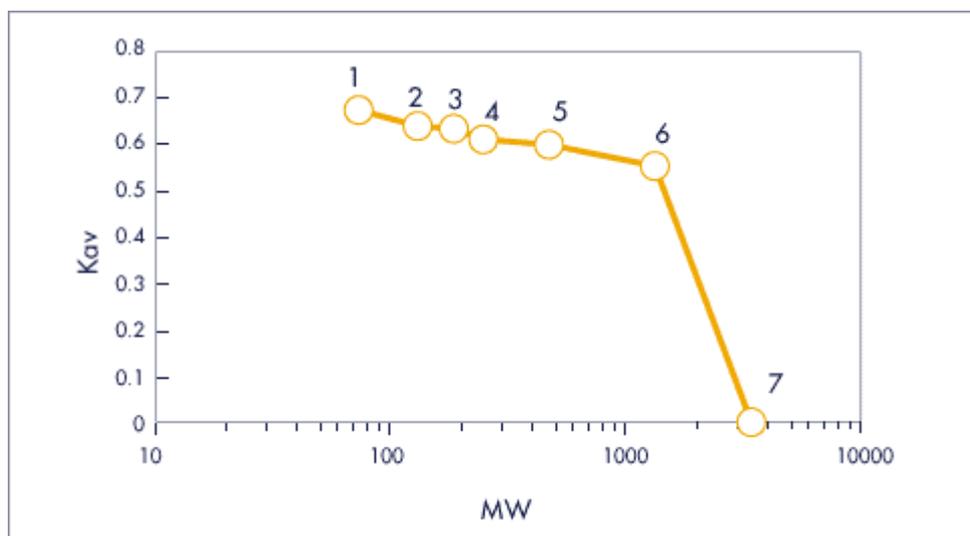


Figure 1
Pressure/flow characteristics of Cellufine GH-25 vs Dextran gel

セルファイン GH-25 は物理的強度が高いため、同じ粒径のデキストランゲルのほぼ 2 倍の流量を通過することができます。

セルファイン GH-25 の Kav カーブ



1: (Gly)₇₅ 75 2: (Gly)₂ 132 3: (Gly)₃ 189 4: (Gly)₄ 246
5: パントテン酸カルシウム 477 6: ビタミン B12 1355 7: インスリンβ鎖 3495

応用例

- ・凍結乾燥前や濃縮前の脱塩
- ・バッファー交換
- ・アルコールまたはその他の有機溶剤の除去
- ・核酸の精製における芳香族化合物（フェノール等）の除去
- ・タンパク質を可溶化するために使用される界面活性剤（例：Triton®X-100、SDS）の除去
- ・収縮や膨潤なしに、一般的に使用されているすべての溶媒とバッファーを使用可能
- ・カオトロピック剤（尿素、グアニジンなど）の除去

高速処理による脱塩

セルファイン GH-25 の剛性は、大規模なカラムの使用に理想的です。高流量で操作できるため、小さなカラムを使用して複数サイクルしようすることで、大規模カラムと同様のサンプル処理を実現できます。従来のクロマトグラフィー充填剤とは異なり、操作流速が向上することで、大量のサンプル負荷が可能となり、結果としてサンプルの希釈が減少します。このため脱塩クロマトグラフィーのパフォーマンスが向上します。

タンパク質の脱塩

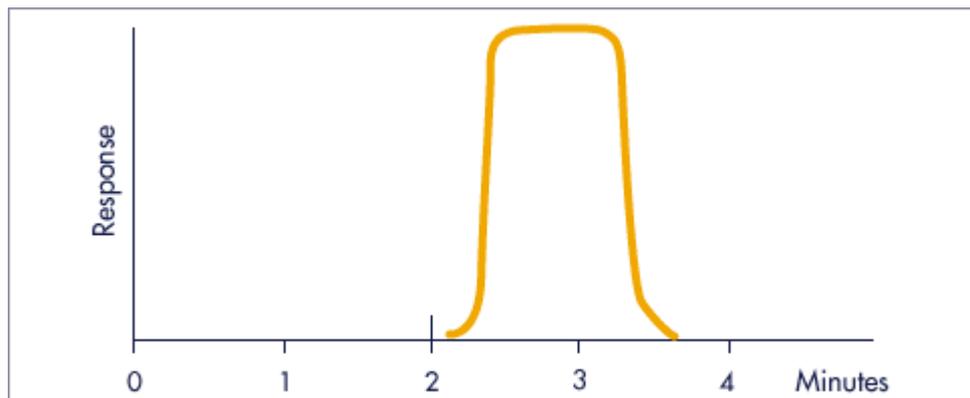


Figure 2
High speed protein desalting

| | |
|-----------|-------------------------------------|
| 担体： | セルファイン GH-25 |
| カラム： | 使用カラム：105 x 587 mm カラム体積：5086 ml |
| 移動相： | 0.1M NaCl |
| 流速： | 1250 ml/min, 870 cm/h |
| サンプル： | 5 % (w/v BSA) 1.5M NaCl 中 |
| サンプル液量： | 1272 ml (カラム体積の 25%) |
| タンパク質回収率： | 99.5 % |
| 塩除去率： | 99 % |
| 希釈倍率： | 1.13x |

ヒトアルブミンからのエタノールの除去

ヒト由来血液のエタノール分画とその後のアルブミンからのエタノールの除去は、アルブミン生産の2つの重要な要素です。表1は、アルブミンからのエタノール除去に、セルファイン GH-25 を使用した事例です。2つの条件の流速で比較しています。流速を増加させた場合においても、脱エタノール効率、アルブミンの回収率、またはサンプルの希釈には影響しませんでした。残存するエタノールの濃度は、どちらの流量でも 0.01%未満でした。流速を 29 cm / h から 100 cm / h に増やすことで、サイクルタイムが 4 分の 1 に短縮されました。

| 操作条件 | 1 | 2 |
|----------------------|--------------|------|
| 担体 | セルファイン GH-25 | |
| カラム直径 (mm) | 50 | 50 |
| カラム高さ (mm) | 680 | 670 |
| カラム体積 (ml) | 1335 | 1320 |
| 流速 (ml/hr) | 570 | 2010 |
| 線速 (cm/h) | 29 | 102 |
| サイクルタイム (hr) | 2.3 | 0.6 |
| サンプル条件 | | |
| サンプル液量 (ml) | 310 | 310 |
| カラム当たりのサンプル体積 (% Vt) | 23 | 23 |
| アルブミン濃度 (%) | 12 | 12 |
| エタノール濃度 (%) | 4.8 | 4.8 |
| 回収後のサンプル品質 | | |
| 回収液量 (ml) | 546 | 525 |
| 希釈倍率 | 1.8x | 1.7x |
| アルブミン濃度 (%) | 6.6 | 6.9 |
| 残存エタノール濃度 (%) | 0.002 | 0.01 |
| アルブミン回収量 (%) | 97 | 98 |

表 1. ヒトアルブミンのエタノール分画後のエタノール除去

産業スケールでの脱塩事例

生体分子をクロマトグラフィーで脱塩することの利点は、大規模スケールで好適に利用できることです。研究からパイロットおよび生産施設に至るまで、セルファイン GH-25 のスケールアップはトラブルなく実現できます。GH-25 の機械的安定性によって、大規模カラムで高流速の条件で使用できます。

1 日あたり 225 L の処理を必要とする典型的な大規模脱塩工程は、105 x 587 mm カラムを用いて、5 L のセルファイン GH-25 で達成できます（表 2 を参照）。この物理的強度の高い担体は、1250 ml / min (870 cm / h) の流速に耐えます。サイクルタイムは 8 分で使用しました。分離能や純度を犠牲にすることなく、大量のサンプル負荷（カラム体積の 25%）を実現できました。

| 担体 | セルファイン GH-25 |
|------------|-------------------------------|
| カラム | 105 mm x 587 mm |
| カラム体積 | 5.1 liters |
| 流速 | 1,250 (ml/min) = 75 (L/hr) |
| 線速 | 870 cm/h |
| サンプル | 5 % w/v タンパク質 1.5M NaCl 中 |
| サンプル体積 | 1.27 liters (25 % of Vt) |
| サンプル量/サイクル | 63.6g |
| サイクル数/日 | 180 |
| タンパク質収量/日 | 11.4kg |
| タンパク質回収率 | 99.5 % |
| 塩除去率 | 99 % (最終濃度 0.015M) |
| サンプル希釈倍率 | 1.13 |
| 総タンパク質回収液量 | 257 L |
| 総処理タンパク質液量 | 225 L |

表 2. 高スピード脱塩処理

ご注文情報

| 製品名 | パックサイズ | カタログ No. |
|--------------|--------------------|-------------|
| セルファイン GH-25 | 5ml x 5 (ミニカラム) | 19711-55 |
| | 100 ml | 670 000 327 |
| | 500 ml | 19711 |
| | 5 L | 19712 |
| | 10 L | 670 000 335 |

JNC 株式会社

ライフケミカル事業部

東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号

TEL : 03-3243-6150 Fax : 3-3243-6219

e メールアドレス: cellufine@jnc-corp.co.jpホームページアドレス: <http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>