

疎水相互作用クロマトグラフィー充填剤

セルファイン **MAX** ブチル **HS**

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: cellufine@jnc-corp.co.jp

<http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>

セルファイン MAX ブチル HS は、ブチル基を表面に固定化した疎水相互作用クロマトグラフィー充填剤です。従来の MAX ブチルと比較して高濃度にブチル基を固定化されています。特に多糖ワクチンの精製に最適化するように設計されています。

高流速タイプの充填剤

セルファイン MAX は高流速で使用することができるセルファインクロマトグラフィー充填剤です。JNC独自の優れた架橋技術によって高流速で使用する堅牢性の高い充填剤を設計しました。

セルファイン MAX のベース担体

セルファイン MAX ブチル HS の原料となるセルロースは天然多糖ですが、非結晶構造を取るアガロースなどとは異なり、ユニークな結晶構造を持ちます。このためセルファインは独特の細孔構造を持ちます（図 1）。セルファイン MAX シリーズはすべてのセルファインシリーズの中で最も大きな細孔サイズを有します。これらのベース基材の特長から機械的強度が高く、細孔内の分子拡散が優れた特徴を持っています。

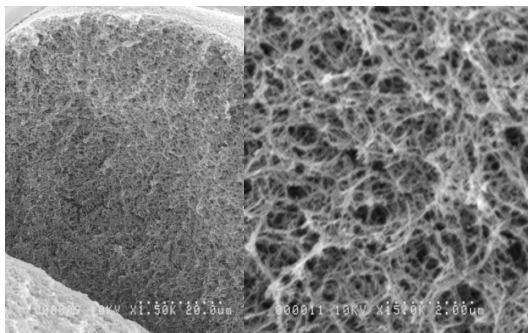


図1 セルファインMAXベース基材のSEM写真

セルファイン MAX ブチル HS のリガンド構造

セルファイン MAX ブチル HS のリガンド構造を図 2 に示します。

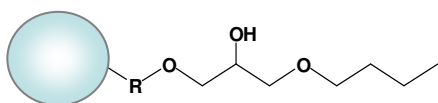


図2 セルファイン MAX ブチル HS のリガンド構造

セルファイン MAX ブチル HS の特長

セルファイン MAX ブチル HS の基本的な特徴は表 1 に示します。充填剤は平均 90μm の高度に架橋されたセルロース粒子です。セルファイン MAX ブチル HS はバイオ医薬品の製造プロセスに利用できるように設計されています。ブチル基を持つクロマトグラフィー充填剤は複数ラインナップされています。それぞれの特長の比較を表 1 に示します。

	MAX ブチル	MAX ブチル HS
ベース担体	高度架橋セルロース	
粒径	40~130 μm (平均 90 μm)	
リガンドタイプ	低濃度ブチル基	高濃度ブチル基
BSA 吸着量 (mg/ml)	9	13
BSA 溶出効率 (%)	70	36
操作圧力	< 0.3 MPa	
pH 安定性 (30 °C, 1 週間)	pH 2~13	pH 2~13
化学安定性	一般的に使用されるバッファーで安定	
定置洗浄	1M NaOH	
保存液	20 %エタノール	

表 1 セルファイン MAX ブチル HS の特長

セルファイン MAX ブチル HS の流速特性

セルファイン MAX ブチル HS は高流速で使用できます。これはバイオ医薬メーカーに欠かせない特徴です。セルファイン MAX ブチル HS の流速特性を示します（図 3）。高流速にもかかわらず低圧で操作できます。この特徴から実製造で操作可能な流速特性を備えています。

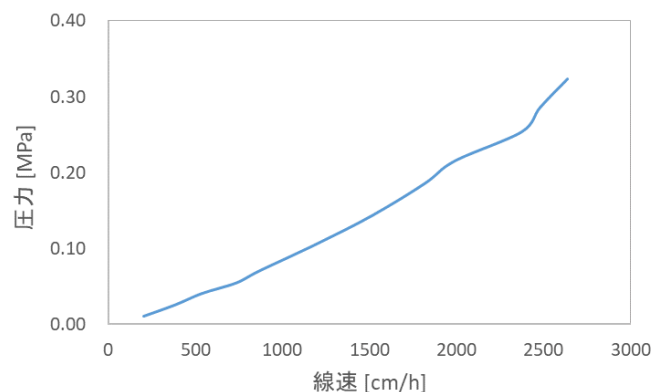


図3 セルファインMAXブチル HSの流速特性

カラム: 内径2.2 cm x 高さ20 cm)

移動相: 純水、24 °C

セルファイン MAX ブチル HS タンパク質の分離性

セルファイン MAX ブチル HS は目的物質を高分離できるように設計されています。図4ではセルファイン MAX ブチルおよびセルファイン MAX ブチル HS のタンパク質の分離挙動を示しています。この結果からタンパク質の吸着の強さは MAX ブチル HS > MAX ブチルであることが判ります。

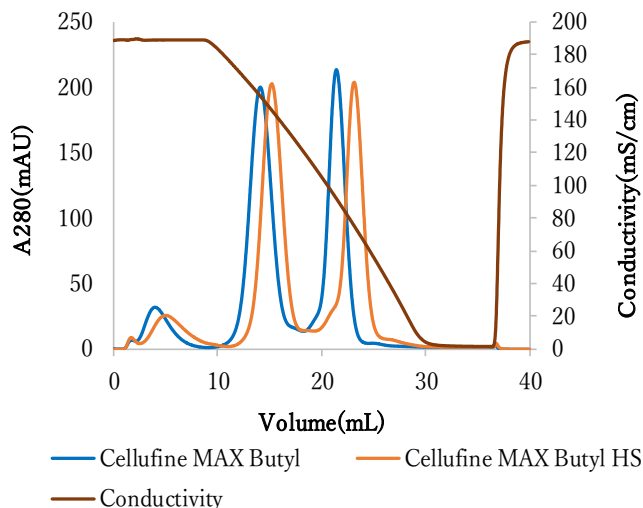


図4 モデルタンパク質の分離特性

カラム：6.6 mm ID x 30 mm (1.0 mL)

緩衝液 A：10 mM リン酸 Na, 1.5 M 硫酸アンモニウム, pH 7.0

緩衝液 B：10 mM リン酸 Na, pH 7.0

タンパク質：リボヌクレアーゼ A, シトクロム C, リゾチーム

応用事例：多糖ワクチンの精製

セルファイン MAX ブチル HS は多糖ワクチンの精製に最良に設計されています。*Streptococcus pneumonia* 血清型 19F (ATCC49619) から莢膜多糖を精製する実施例を紹介します。

サンプルの準備

Streptococcus pneumonia 血清型 19F (ATCC49619) をヒツジ血液寒天培地に接種し、16 時間嫌気性条件で培養した後に、2000mL の Brain Heart Infusion 培地に接種し 37 °C で 20 時間培養した。培養液に 10%デオキシコール酸ナトリウムを添加し 37 °C で 16 時間インキュベートして溶菌した。遠心分離 (12,000 rpm, 15 分, 4 °C) し、上清を回収した。さらにこの上清を 0.45 μm セルロースアセテートメンブレンフィルターでろ過した。ろ液を限外ろ過 (Vivaflow 200, MilliQ, MWC0 100k) により濃縮した。

試料に飽和溶解度の 50%に相当する硫酸アンモニウムを添加し、4 °C で 16 時間インキュベートした。遠心分離 (12,000 rpm, 15 分, 4 °C) によりペレットを除き、0.2 μm のメンブレンフィルターろ過を行った溶液をクロマトグラフィー用ロードサンプルとした。

クロマトグラフィー精製

セルファイン MAX ブチル HS を用いて、以下の条件でクロマトグラフィー精製を行った。

工程	溶液	容量
平衡化	緩衝液 B	5 CV
サンプルロード	サンプル溶液	40 CV
溶出 1	緩衝液 A	10 CV
溶出 2	超純水	20 CV
洗浄	緩衝液 A	5 CV
定置洗浄	0.5M NaOH 溶液	5 CV
平衡化	超純水	20 CV

カラム：6.7 mmID x 30 mm (1.06 mL)

流速：0.212 mL/min (RT 5 min, 36cm/hr), 平衡化のみ 1 mL/min

緩衝液 A：10 mM リン酸ナトリウム, pH7.0

緩衝液 B：10 mM リン酸ナトリウム, pH7.0, 2.0 M 硫酸アンモニウム

精製結果

多糖量はアンスロン硫酸法を用いて定量した。タンパク質量は Protein assay kit (Bio-Rad) を用いたブラッドフォード法により定量した。核酸量は BioSpec nano (Shimadzu) を用いて 260 nm の吸光度を測定し、1 AU=50 μg/mL として計算した。

	多糖 μg/mL	多糖 回収率%	多糖 純度%	蛋白質 μg/mL	核酸 μg/mL
ロード液	726	-	46	73	772
精製後	518	89	54	0	436

化学安定性および定置洗浄

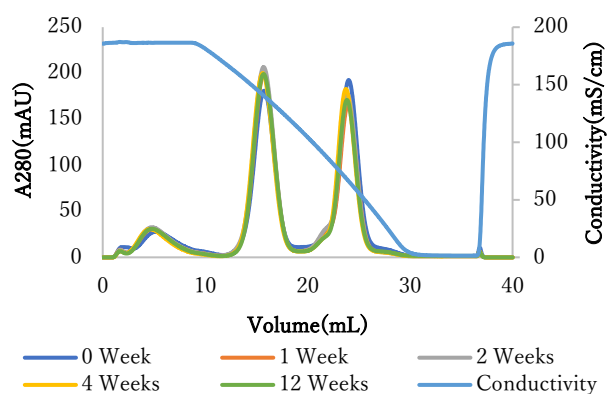
セルロースは化学的、物理的に安定な天然化合物として知られています。セルファインはセルロース由来のため化学薬品、酸性、アルカリ性に安定性を示します。セルファイン MAX ブチル HS の定置洗浄 (CIP) には 0.5M~1.0 M NaOH 水溶液が使用できます。使用後の充填剤は洗浄後、20 %エタノール内で 2-25°C で保存します。

使用可能な化学薬品など

- ✓ エタノール (70%)
- ✓ イソプロパノール (30%)
- ✓ グアニジン塩酸塩 (6M)
- ✓ 尿素 (6M)
- ✓ NaOH (0.5M)
- ✓ 界面活性剤
- ✓ オートクレーブ (121 °C, 20 min)

繰り返し使用性

1 M NaOH にセルファイン MAX ブチル HS を浸漬させた後、モデルタンパク質を用いた分離特性を評価しました。12 週間後も分離特性は変化せず、定置洗浄を繰り返しても分離性能が変化しないことが判ります。



カラム: 6.6 mm ID x 30 mmL (1.0 mL)

緩衝液 A: 10 mM リン酸 Na, 1.5 M 硫酸アンモニウム, pH 7.0

緩衝液 B: 10 mM リン酸 Na, pH 7.0

タンパク質: リボヌクレアーゼ A, シトクロム C, リゾチーム

図5 1 M NaOH 浸漬後のモデルタンパク質の分離特性

ご注文の情報

製品名	パックサイズ	カタログ No.
セルファイン MAX ブチル HS	1ml x 5 (Mini-Column)	22200-51
	5ml x 5 (Mini-Column)	22200-55
	100 ml	22200
	500 ml	22201
	5 lt	22202
	10 lt	22203
セルファイン MAX ブチル	1ml x 5 (Mini-Column)	21100-51
	5ml x 5 (Mini-Column)	21100-55
	100 ml	21100
	500 ml	21101
	5 lt	21102
	10 lt	21103

ご購入・テクニカルサポートのご依頼

(北米)

JNC America Incorporated
 555 Theodore Fremd Avenue, Suite
 C-206
 Rye, NY 10580 USA
 TEL: 914-921-5400
 FAX: 914-921-8822
 E-mail: cellufine@jncamericany.com

(日本、アジア、その他)

JNC株式会社
 ライフケミカル事業部
 〒100-8105
 東京都千代田区大手町二丁目2番1号
 新大手町ビル9階
 Tel: +81-3-3243-6150
 Fax: +81-3-3243-6219
 E-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp