

イオン交換クロマトグラフィー充填剤
セルファイン IEX

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 : 03-3243-6219

e メール: cellufine@jnc-corp.co.jp

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

セルファインについて

セルファインは多孔質で真球状のセルロース粒子をベース基材としたクロマトグラフィー充填剤である。セルファインは1981年より多くのバイオ医薬品のGMP製造プラントで使用されてきた。セルロースはユニークな結晶構造を分子内に持つ天然物質である。この特徴が化学的な安定性と物理的強度を与えている。このためセルファインは物理的強度が高く、カラム充填に優れ、高流速で通液することができる。

セルファインイオン交換クロマトグラフィー充填剤

セルファインのイオン交換クロマトグラフィー充填剤は6種類ある。表1に特長を示す。またリガンド構造を図1に示す。セルファイン IEX (ion exchanger) 500 シリーズは汎用性の高い充填剤である。図2ではセルファイン IEX シリーズのKav値を示している。Kav値は充填剤の細孔サイズを示す指標であり、充填剤の細孔サイズは吸着量などの性能に影響を与える。セルファインでは3つの異なる弱陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤をラインナップしている。図2に示すようにそれぞれ細孔サイズが異なっている。

Cellufine A-200, A-500, A-800	
Cellufine Q-500	
Cellufine C-500	
Cellufine S-500	

図1. セルファインIEXのリガンド構造

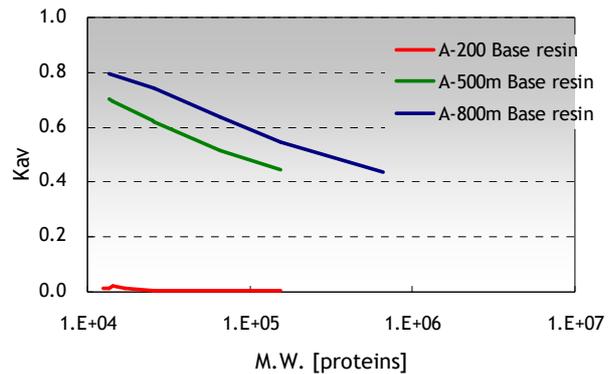


図2 セルファイン陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤のKavプロファイル

セルファイン IEX 充填剤の特長

セルファイン IEX 充填剤の基本的な特長を表1に示す。すべての充填剤は平均90 μmの粒径で、セルロース粒子を架橋したベース粒子を用いている。図3ではセルファイン A-500の粒度分布を示している。セルファイン IEX 500 シリーズはいずれも同様の粒度分布となっている。

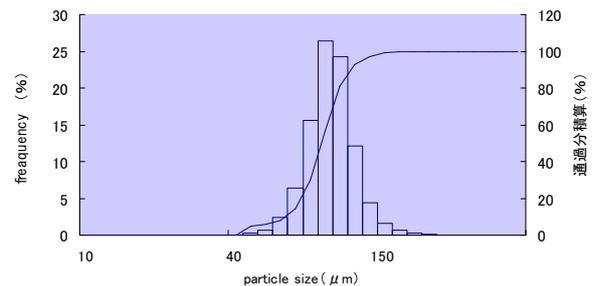


図3 セルファインA-500の粒度分布

セルファイン IEX 500 タイプ (セルファイン A-500、セルファイン Q-500、セルファイン C-500、セルファイン S-500) はセルファイン IEX 充填剤のスタンダードタイプの充填剤である。産業用途で使用できるような良好な流速特性が特長である。これらの充填剤はIgGが細孔内に入る十分な細孔サイズを有している。

セルファイン A-200 はセルファイン IEX 充填剤の中でも狭い細孔サイズを有している。このためタンパク質の吸着、溶出は粒子表面のみで行われる。このため図4に示されるようにタンパク質の破過曲線は垂直に立ち上がる。このような特徴からセルファイン A-200 は非特異的吸着を最小限に抑えるため、不純物のみを吸着させるフロースルーモードとしての活用に適している。

セルファイン A-800 はチログロブリン (MW=660kDa) のような大きなタンパク質が入る細孔サイズを有している。図5および図6に示されるように圧力損失が高く通液性は他製品には及ばないが、動的吸着量は最も高い。セ

ルファイン A-800 は特に大きな分子量のタンパク質の精製に適している。

セルファイン Q-500 は A-500 をベース原料として 4 級アンモニウムリガンド (Qリガンド) を修飾した充填剤である。図 9 に示されるように高塩濃度の条件下で動的吸着量が高い特長がある。

セルファイン IEX 充填剤の流速特性

図 5 では内径 2.2cm x 20cm L のカラムを用いたセルファイン IEX 充填剤の圧力-流速カーブを示している。図 6 では内径 30cm x 20cm L の大型カラムを用いたセルファイン A-500 の圧力-流速カーブを示している。これらの結果からセルファイン IEX 充填剤はバイオ医薬品の産業製造に適した流速で通液出来ることが判る。

表 1. セルファイン IEX 充填剤の特長

	A-200	A-500	A-800	Q-500	C-500	S-500
Base Matrix	Cross-linked cellulose					
Particle size (μm)	40-130					
Ion exchange type	Weak (DEAE)			Strong (QA)	Weak (CM)	Strong (S)
Ion Exchange (meq/ml-gel)	0.13-0.18	0.13-0.17	0.05-0.08	0.14-0.29	0.09-0.12	0.11-0.22

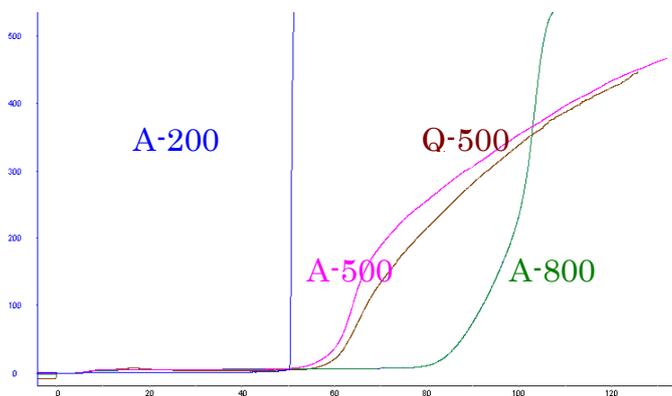


図 4. 陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤の破過曲線

カラム: 5 mm ID x 50 mm L

流速: 150 cm/h

サンプル: BSA 1 mg/ml

吸着バッファー:

A-200, A500, A-800 : 50 mM Tris-HCl (pH 8.5)

Q-500 : 50 mM Tris-HCl (pH 8.0)+ 50 mM NaCl

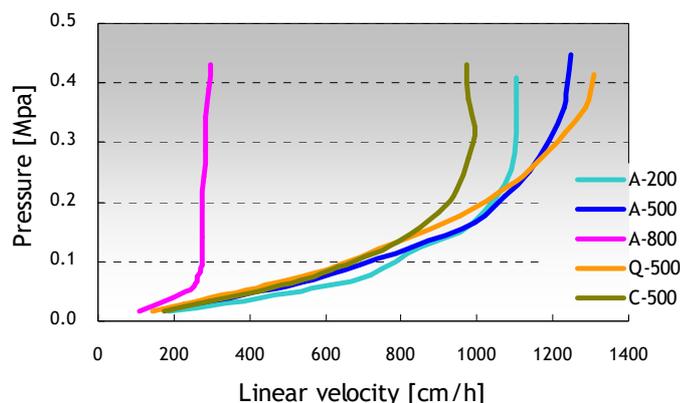


図5. セルファインIEX充填剤の流速特性

カラム: 2.2 cm I.D. x 20 cm L

移動相: 純水 24 °C

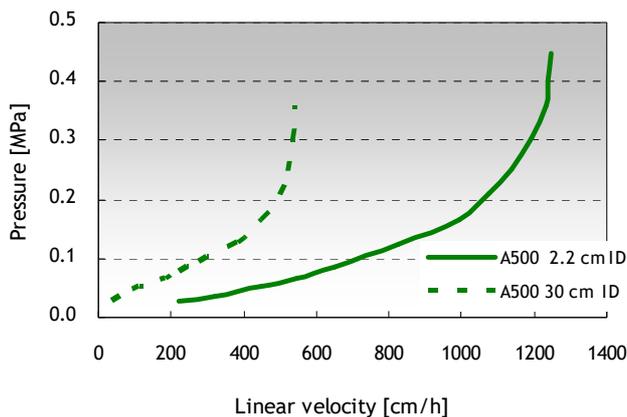


図6. セルファインA-500の大型カラムでの流速特性

カラム1: 2.2 cm I.D. x 20 cm L
 カラム2: 30 cm I.D. x 20 cm L
 移動相: 純水 24 °C

セルアフィン IEX 充填剤の動的吸着量

セルファイン IEX 充填剤はタンパク質の細孔内拡散に優れた特長を持つ。特に免疫グロブリンなどの大きな分子量を持つタンパク質の動的吸着量に優れている（図7、図8）。この様な特徴から精製工程の上流から下流の工程のいずれにも好適に使用できる。

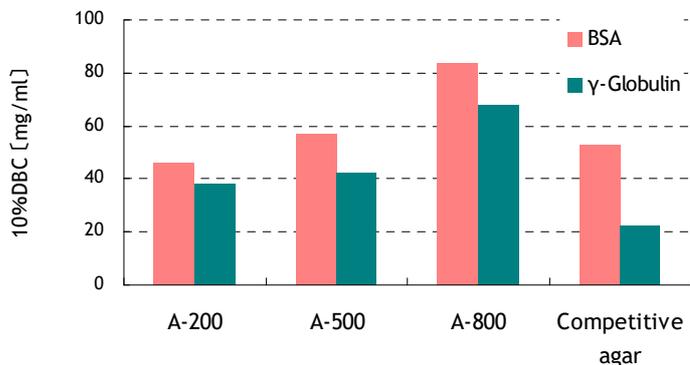


図7. 弱陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤の動的吸着量

カラム: 5 mm ID x 50 mm L
 流速: 150 cm/h
 サンプル: 1 mg/ml BSAまたはγ-グロブリン
 吸着バッファー:
 γ-グロブリン: 50 mM Tris-HCl (pH 9.5)
 BSA: 50 mM Tris-HCl (pH 8.5)

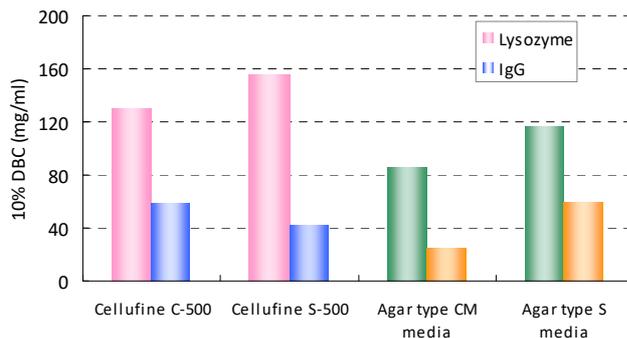


図8. 陽イオン交換クロマトグラフィー充填剤の動的吸着量

カラム: 5 mm ID x 50 mm L
 流速: 150 cm/h
 サンプル: 1 mg/ml (リゾチームまたはIgG)
 吸着バッファー:
 IgG: 10 mM Acetate (pH 5.3)
 リゾチーム: 50 mM Tris-HCl (pH 8.5)

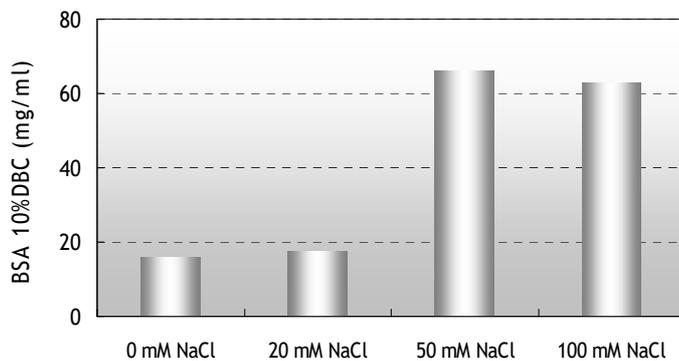


図9. セルファインQ-500の高塩濃度での動的吸着量DBC

カラム: 5 mm ID x 50 mm L
 流速: 150 cm/h
 サンプル: 1 mg/ml BSA
 吸着バッファー: 50 mM Tris-HCl (pH 8.5) + NaCl

モデルタンパク質を用いた分離特性

セルファイン IEX 充填剤は高吸着、高分離性能に最適化されている。モデルタンパク質を用いた分離特性を図10~11に示す。

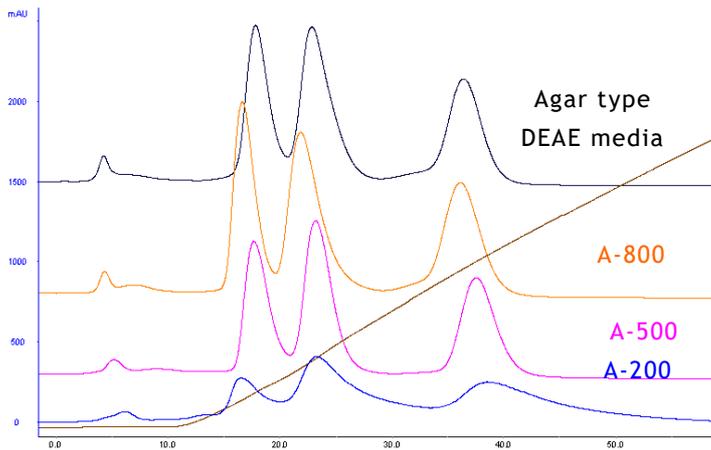


図10 弱陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤の分離特性

カラム: 6.6 mm ID×50 mm L

バッファーA: 50 mM Tris-HCl (pH 8.5)

バッファーB: 50 mM Tris-HCl (pH 8.5) + 1 M NaCl
(0→75 % リニアグラジエント)

流速: 0.86 ml/min (residence time 2 min)

タンパク質: トランスフェリン (5 mg/ml),
BSA (10 mg/ml),
ペプシン (5 mg/ml)

インジェクション量: 1.5 ml

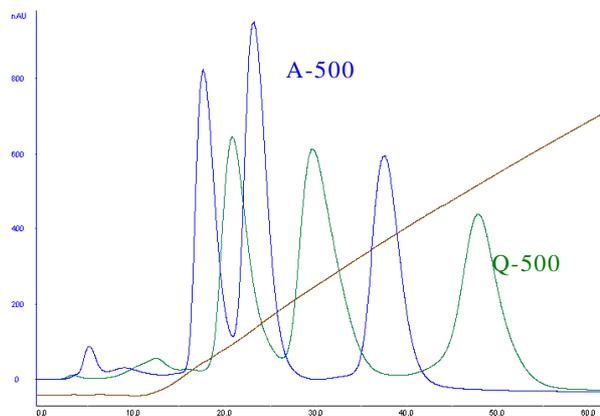


図11 A-500 と Q-500 の分離特性比較

カラム: 6.6 mm ID×50 mm L

バッファーA: 50 mM Tris-HCl (pH 8.5)

バッファーB: 50 mM Tris-HCl (pH 8.5) + 1 M NaCl
(0→75 % リニアグラジエント)

流速: 0.86 ml/min (residence time 2 min)

タンパク質: トランスフェリン (5 mg/ml),
BSA (10 mg/ml),
ペプシン (5 mg/ml)

インジェクション量: 1.5 ml

化学安定性と定置洗浄

セルロースは化学的、物理的に安定な天然多糖であることが知られている。セルファインはセルロースをベース基材としているため、化学品、酸、アルカリ性に安定である。すべてのセルファイン IEX 充填剤は 0.5M NaOH 水溶液での定置洗浄が可能である。使用後の充填剤は定置洗浄後、20%エタノール水溶液に置換して 2～25℃で保存すること。

ご注文の案内

製品名	容量	カタログ No.	製品名	容量	カタログ No.
セルファイン A-200	1ml x 5 (ミニカラム)	19611-51	セルファイン Q-500	1ml x 5 (ミニカラム)	19907-51
	100 ml	676980327		5ml x 5 (ミニカラム)	19907-55
	500 ml	19611		100 ml	675982327
	5 lt	19612		500 ml	19907
	10 lt	676980335		5 lt	19908
			10 lt	675982335	
セルファイン A-500	1ml x 5 (ミニカラム)	19805-51	セルファイン C-500	1ml x 5 (ミニカラム)	19800-51
	5ml x 5 (ミニカラム)	19805-55		5ml x 5 (ミニカラム)	19800-55
	100 ml	675980327		100 ml	675983327
	500 ml	19805		500 ml	19865
	5 lt	19806		5 lt	19866
			10 lt	675983365	
セルファイン A-800	1ml x 5 (ミニカラム)	19865-51	セルファイン S-500	1ml x 5 (ミニカラム)	21200-51
	5ml x 5 (ミニカラム)	19865-55		5ml x 5 (ミニカラム)	21200-55
	100 ml	673980327		100 ml	21200
	500 ml	19800		500 ml	21201
	5 lt	19801		5 lt	21202
			10 lt	21203	

ご購入/技術サポート

(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

JNC 株式会社

ライフケミカル事業部

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