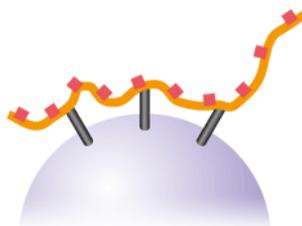


イオン交換クロマトグラフィー充填剤

セルファイン MAX Q-hv

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 MAX Q-hv は強陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤です。高度に架橋された粒子に表面修飾を施したベース担体を使用しています。このため高い耐圧性を有しています。特に多糖ワクチンの精製に有効になるようにリガンド濃度を設計しています。

セルファイン MAX Q シリーズには、溶出性の優れたセルファイン MAX Q-r、高吸着性能が高いセルファイン MAX Q-h がラインナップされています。セルファイン MAX Q-hv は、吸着性能を維持しつつ、サイズの大きい核酸や多糖、ウイルス粒子のような標的物質の溶出性を改善することを志向したリガンド設計をしています。このため、従来の MAX Q-r、MAX Q-h とは異なる分離挙動が期待できます。

高流速・高吸着を特徴とする充填剤

セルファイン MAX Q-hv は高流速タイプのセルファインです。JNC独自の優れた架橋技術によって高流速で使用できる堅牢性の高い充填剤を設計しました。さらに表面修飾技術によってリガンドの利用効率を飛躍的に増加させました。この技術によって高い動的吸着性能を実現しました。

セルファイン MAX のベース担体

セルファイン MAX Q-hv の原料となるセルロースはユニークな結晶構造を持つ天然多糖で、非結晶構造を取るアガロースとは異なる特徴を持ちます。この特徴から図1の SEM 写真に見られるように大きな細孔を有します。このため精製対象物質は細孔内へ素早く拡散しますので優れた吸着性能を示します。

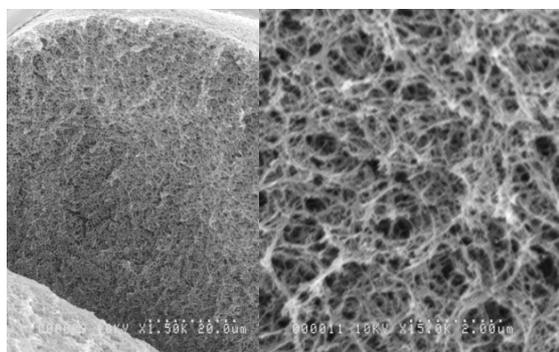


図1 ベース担体のSEM写真

セルファイン MAX Q-hv 化学構造

セルファイン MAX Q-hv のリガンド構造を図2に示します。

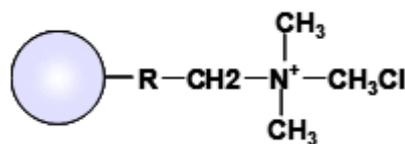


図2 セルファインMAX Q-hvのリガンド構造

セルファイン MAX Q-hv の特長

基本的な特徴を表1に示します。すべてのセルファイン MAX イオン交換クロマトグラフィー充填剤は平均粒径 90um の高度に架橋されたセルロース粒子にデキストランを修飾した粒子をベース担体としています。セルファイン MAX Q-hv はワクチンの主成分となる多糖類やウイルス粒子の精製に最適化するようにイオン交換容量、細孔サイズなどを調整しています。

	MAX Q-r	MAX Q-h	MAX Q-hv
イオン交換基	強陰イオン / $-N^+(CH_3)_3$		
ベース担体	デキストラン修飾された高度架橋セルロース粒子		
粒径	ca. 40 - 130 um (平均 90um)		
イオン交換容量 meq/ml	0.10~0.20	0.13~0.22	0.04~0.07
操作流速	600 cm/h (0.3 MPa) I.D. 30 cm=L20 cm、移動相：純水 24 °C		
動的吸着量 BSA mg/ml	110	180	120
使用可能 pH	2-12	2-12	2-12
pH 安定性 (30°C, 1 週間)	2-12	2-12	2-12
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	1 M NaOH	0.5M NaOH	
保存液	20 % エタノール水溶液		

表1 セルファイン MAX Q-hv の特長

高い動的吸着量と回収率

セルファイン MAX Q-hv は多糖類の精製に効果的な強陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤です。セルファインには複数種類の強陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤がラインナップされていますが、多糖類の精製において、セルファイン MAX Q-hv は高い動的吸着量と良好な回収率を示します(表2)。

	動的吸着量 [mg/mL]	回収率 [%]
MAX Q-hv	22	109
MAX Q-h	17	72
MAX Q-r	9	95

表 2 肺炎連鎖球菌由来の多糖の吸着性能

部分的精製された肺炎連鎖球菌由来の多糖を用いて動的吸着量と回収率を求めた。動的吸着量は 20 %破過点時の吸着量を求めている。

クロマトグラフィー条件

カラム: 6.7 mmID×30 mmH (1.06 mL)
 流速: 0.212 mL/min (RT 5 min, 36 cm/h)
 吸着バッファー: 50 mM リン酸 Na, pH6.0
 溶出バッファー: 50 mM リン酸 Na + 1 M NaCl, pH6.0

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 Q-hv の定置洗浄 (CIP) には 0.5M-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℃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)
- ✓ 界面活性剤

定置洗浄液での安定性

セルファイン MAX Q-hv は定置洗浄によく用いられている 0.5 M NaOH に安定です。7 日間の浸漬後も性能は維持されていきました (表 2)。この結果から定置洗浄時に 15 分の暴露時間を設定した場合、672 回相当の定置洗浄で安定であることが判ります。

保存日数	BSA 吸着量 (mg/mL)	イオン交換容量 (meq/mL)	N 元素 %
0	155	0.06	0.9
7	146	0.05	0.9

表 2 0.5 M NaOH 浸漬後の安定性

応用事例：多糖ワクチンの精製

サンプルの準備

肺炎レンサ球菌 *Streptococcus pneumoniae* 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。ペレットを遠心分離 (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

1. セルファイン MAX ブチル HS による 1 段階目精製
操作方法はセルファイン MAX ブチル HS の取扱説明書を参照のこと。
2. セルファイン MAX Q-hv による 2 段階目精製
セルファイン MAX Q-hv 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 A	5 CV
サンプルロード	サンプル溶液	-
洗浄	緩衝液 A	15 CV
溶出	緩衝液 B	10 CV
洗浄	緩衝液 A	10 CV
定置洗浄	0.5M NaOH 溶液	10 CV
平衡化	超純水	20 CV

カラム: 6.7 mmID×30 mmH (1.06 mL)

流速: 0.424 mL/min (RT 2.5 min, 72 cm/hr)

緩衝液 A: 50 mM リン酸ナトリウム, pH 6.0

緩衝液 B: 50 mM リン酸ナトリウム, 1.0 M 塩化ナトリウム, pH 6.0

3. 精製結果

多糖はアンスロン硫酸法を用いて定量した。タンパク質は 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。

	10% DBC mg/mL	多糖 回収率%	多糖 純度%	蛋白質 μg/mL	核酸 μg/mL
ロード液	-	-	76	5.1	162
精製後	6.4	98	99	N. D.	4

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 Q-hv	5 x 1 mL ミニカラム	22100-51
	1 x 5 mL ミニカラム	22100-15
	100 mL	22100
	500 mL	22101
	5 L	22102
	10 L	22103

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: 03-3243-6150
 Fax: 03-3243-6219
 E-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp