

疎水クロマトグラフィー用充填剤

New TOYOPEARL Phenyl FT-750

TOYOPEARL Ether-650

TOYOPEARL Butyl-650

TOYOPEARL PPG-600

TOYOPEARL Butyl-600

TOYOPEARL SuperButyl-550

TOYOPEARL Phenyl-650

TOYOPEARL Hexyl-650

TOYOPEARL Phenyl-600

TOYOPEARL Hexyl-650、Butyl-650、Phenyl-650、Ether-650は親水性ビニルポリマーを基材としたサイズ排除クロマトグラフィー用充填剤 TOYOPEARL HW-65（たんぱく質排除限界分子量 5×10^6 ）にヘキシル基、ブチル基、フェニル基またはオリゴエチレングリコール基を導入した疎水クロマトグラフィー用充填剤です。

TOYOPEARL PPG-600、Butyl-600、Phenyl-600は抗体（IgG）に適した細孔径をもつHW-60にポリプロピレングリコール基、ブチル基、フェニル基を導入した充填剤です。

TOYOPEARL Phenyl FT-750はHW-75にフェニル基を、TOYOPEARL SuperButyl-550はHW-55にブチル基を導入した充填剤です。

いずれも塩濃度を高くしても体積が変化しにくく種々のたんぱく質をよく吸着します。また吸着したたんぱく質を水溶液中で高収率に溶出でき、疎水クロマトグラフィー用充填剤として望ましい性質をほとんどそなえています。

▼ 特長

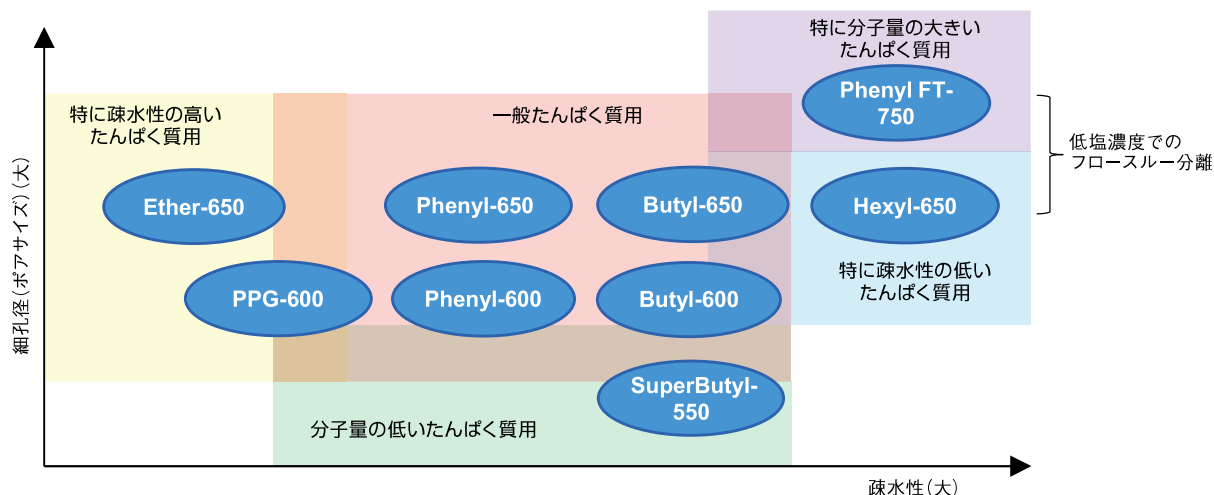
- 豊富な疎水性、細孔径ラインナップから、試料の特性により最適な充填剤を選択することができます。
- TOYOPEARL HWタイプの特長は全て有しています。
- 高塩濃度でも体積変化が少なく安定です。
- 種々の溶媒に対して安定です。
- ほとんどの場合、有機溶媒を用いないため活性を維持したまま分離できます。
- 熱に対して安定です。オートクレーブ処理ができます。
- 600シリーズは、充填剤の細孔径を抗体（IgG）の分離に適するように設計しており、抗体の吸着、分離・回収に優れています。試料の疎水性に合わせ、3種類の疎水ゲルが選択できます。

▼ 主な対象物質

- たんぱく質
- たんぱく質構造異性体、凝集体
- 酵素、アインザイム

▼ 充填剤の選択

- SuperButyl-550は比較的低分子量のたんぱく質の分離に適しています。
- PPG-600、Phenyl-600、Butyl-600は抗体（IgG）の分離に適しています。
- Ether-650、PPG-600は疎水性が低く、比較的高い疎水性のたんぱく質の分離に適しています。
- Phenyl FT-750、Hexyl-650は疎水性が高く、低塩濃度でのフローズン分離が可能です。特にPhenyl FT-750は細孔径が大きく、抗体凝集体等の吸着除去やプラスミドの分離に適しています。



一覧表

品 名	容 量	S		M		C	
		品 番	価 格 (円)	品 番	価 格 (円)	品 番	価 格 (円)
TOYOPEARL Phenyl FT-750	100 mL	—	—	0023554 ^{*1)}	35,000	—	—
TOYOPEARL Ether-650	100 mL	0016172	36,000	0016173	22,000	—	—
TOYOPEARL Phenyl-650	100 mL	0014477	36,000	0014478	22,000	0014479	22,000
TOYOPEARL Butyl-650	100 mL	0007476	36,000	0007477	22,000	0007478	22,000
TOYOPEARL Hexyl-650	100 mL	—	—	—	—	0019026	29,000
TOYOPEARL PPG-600	100 mL	—	—	0021302	34,000	—	—
TOYOPEARL Phenyl-600	100 mL	—	—	0021888	34,000	—	—
TOYOPEARL Butyl-600	100 mL	—	—	0021449	34,000	—	—
TOYOPEARL SuperButyl-550	100 mL	—	—	—	—	0019956	34,000

出荷形態：20 %エタノール水溶液に膨潤した状態で懸濁液として出荷されます。

粒子径 (膨潤時)：S (Super Fine)：20～50 μm 、M (Medium)：40～90 μm 、C (Coarse)：50～150 μm *1) F (Fine)：30～60 μm

疎水基 (官能基) の含有量の異なるグレードをご希望の場合は、当社営業にご相談ください。

初期スクリーニング用カラムについてはP.168をご参照ください。

トヨパール充填大口径分取カラムまたは大量に充填剤をご使用の際は、当社営業までお問い合わせください。

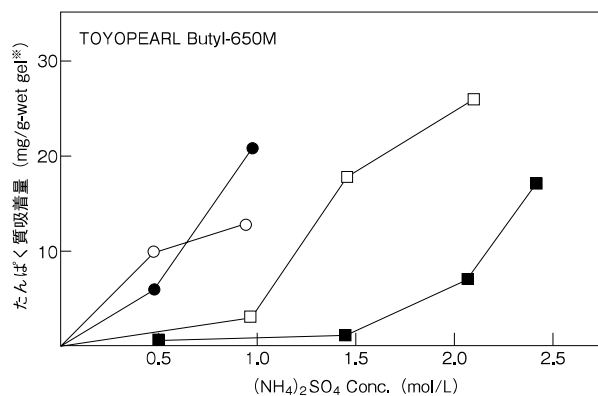
たんぱく質の吸着量

たんぱく質	吸着量 (g/L)		
	Butyl-650M	Phenyl-650M	Ether-650M
チトクロムC	18	—	—
リボヌクレアーゼA	31	—	—
オブアルブミン	37	—	—
リゾチーム	40	39	31
ウシ血清アルブミン	—	19	23
免疫グロブリンG	—	—	64
チログロブリン	—	57	—

吸着条件：0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) + 2.0 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Butyl-650MまたはEther-650M) または + 1.5 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Phenyl-650M)

たんぱく質吸着量の塩濃度依存性

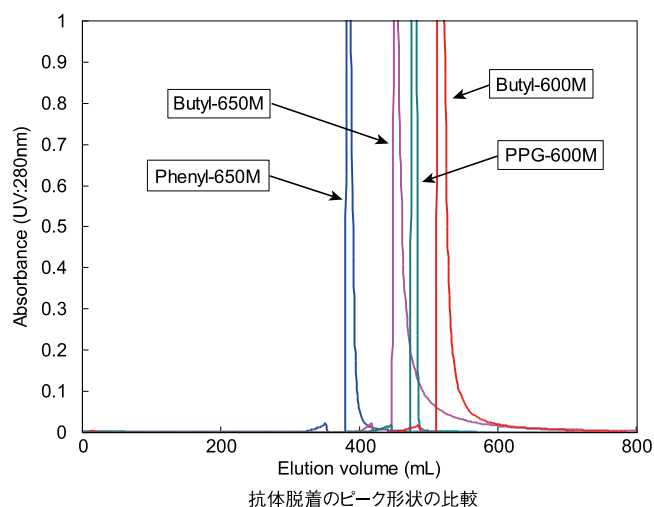
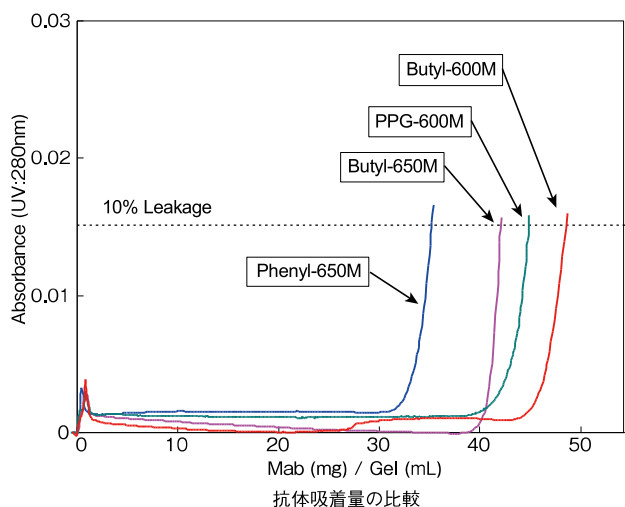
たんぱく質の種類及び塩濃度によりたんぱく質の吸着量は大きく変化します。Butyl-650Mへのたんぱく質の吸着量と塩濃度の関係を示します。



- ：チログロブリン
- ：免疫グロブリンG
- ：オブアルブミン
- ：チトクロムC

*wet gel：ガラスフィルタ上で約30分、60 kPa減圧下で脱水処理した充填剤

抗体吸脱着の比較



充填剤	動的吸着量 (10 %漏出) (g/L-gel)
Phenyl-650M	35
Butyl-650M	42
PPG-600M	45
Butyl-600M	49

カラムサイズ: 7.8 mm I.D. × 20 cm

線 速: 300 cm/h

操 作: サンプルを 10 % 漏出まで供給 → 洗浄 (3 CV) → 溶出
供給サンプル: 1 g/L ヒト化モノクローナル抗体
(0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 + 1.0 mol/L (NH₄)₂SO₄ (pH 7.0) に溶解)

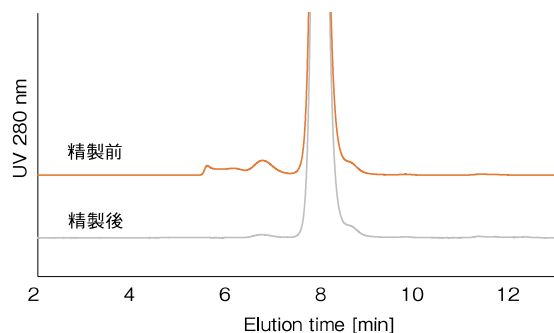
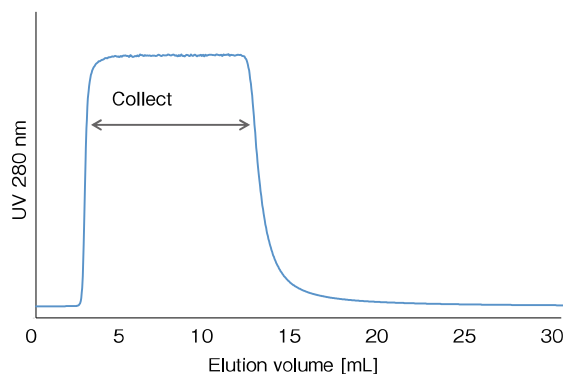
洗 浄 液: 0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 + 1.0 mol/L (NH₄)₂SO₄ (pH 7.0)

溶 出 液: 0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 6.6)

- 600シリーズでは、抗体に対して高い吸着量を示します。
- 脱着においては、疎水性の低い充填剤の方がシャープなピーク形状を示しますので、サンプルの希釈が抑えられ、高い回収率が得られます。また精製サイクル時間が短縮され、生産性が向上します。
- 本試験試料に対しては、PPG-600Mは吸着量、脱着特性の観点から、適した充填剤であると言えます。

フローズルクロマトグラフィー

- フローズルクロマトグラフィーは不純物を吸着除去し、目的物質を素通りさせて回収するクロマトグラフィーモードです。
- 通常の吸脱着モードに比較して、ステップ数が少なく操作が容易、単位充填剤あたりの処理量が大いといった利点があります。
- Phenyl FT-750、Hexyl-650は疎水性が高く、低塩濃度でのフローズル精製が可能です。特にPhenyl FT-750は細孔径が大きく、抗体凝集体等の吸着除去に適しています。



カラムサイズ: 4.6 mm I.D. × 10 cm

バッファー: 50 mM リン酸塩緩衝液 (pH 6.8) + 150 mM 硫酸ナトリウム

流 量: 0.83 mL/min (滞留時間: 2 分)

負 荷 量: 抗体濃度 10 g/L × 10 mL

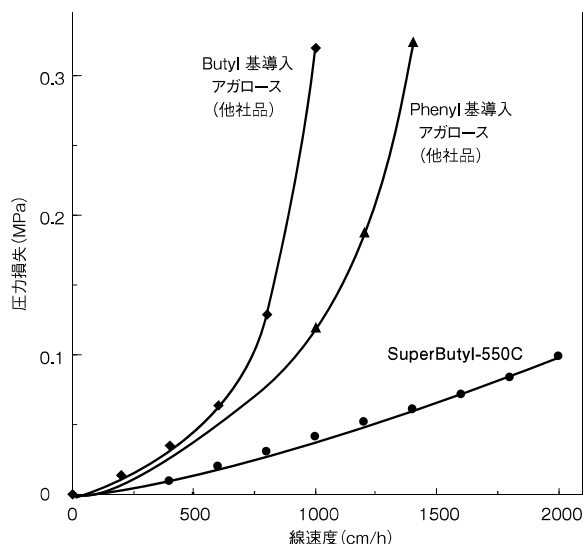
カラム: TSKgel G3000SW_{XL} (7.8 mm I.D. × 30 cm)

溶 離 液: 100 mM リン酸塩緩衝液 + 200 mM 硫酸ナトリウム (pH 6.8)

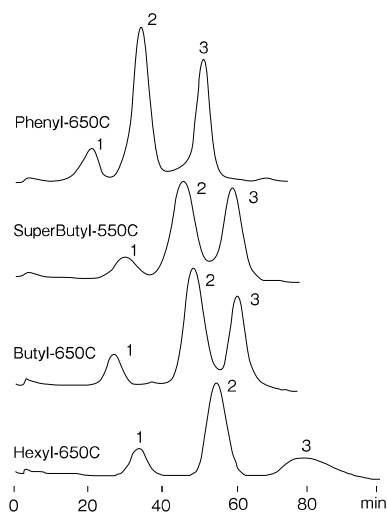
流 量: 1.0 mL/min

▼ 線速度と圧力損失の関係 (水通液時)

カラムサイズ: 22 mm I.D. × 20 cm



▼ たんぱく質分離の比較



カラムサイズ: 7.5 mm I.D. × 7.5 cm

溶離液: A: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) + 1.8 mol/L (NH₄)₂SO₄

B: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0)

A → B (60 min, リニアグラジエント) 1.0 mL/min

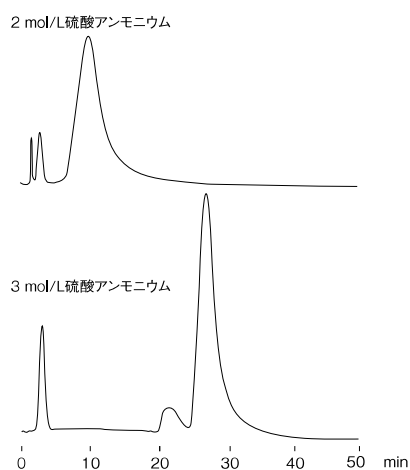
検出: UV (280 nm)

流速: 100 μL

注入量: 1, リボヌクレアーゼ A (1 g/L) 2, リゾチーム (1 g/L)

試料: 3, α-キモトリプシノーゲン A (1 g/L)

▼ プラスミドの分離 (初期塩濃度の比較)



カラム: TOYOPEARL Hexyl-650C (7.5 mm I.D. × 7.5 cm)

溶離液: A: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) + 2 mol/L または 3 mol/L (NH₄)₂SO₄

B: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0)

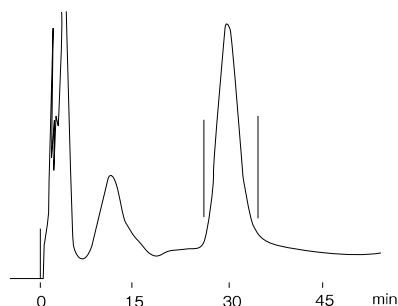
A → B (60 min, リニアグラジエント)

流速: 1.0 mL/min

検出: UV (260 nm)

注入量: 10 μg in 90 μL (2 mol/L (NH₄)₂SO₄ を含む)

試料: プラスミド pBR322

▼ モノクローナル抗体 (IgG₁ マウス腹水) の分離

カラム: TOYOPEARL Ether-650M (7.5 mm I.D. × 7.5 cm)

溶離液: A: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) + 1.8 mol/L (NH₄)₂SO₄

B: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0)

A → B (60 min, リニアグラジエント)

流速: 1.0 mL/min

検出: UV (280 nm)

●モノクローナル抗体など分子量の大きなたんぱく質は、疎水性も強くなりますので、Ether-650を使うと高い分離能が得られ、不純物とも良く分離することができます。