

抗体特異的 AFC 用充填剤

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F (高吸着型)

TOYOPEARL AF-rProtein A-650F (高流速型)

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F 及び AF-rProtein A-650F は、抗体精製用の耐アルカリ性の高吸着型及び高流速型 (ハイスループット型) のプロテイン A 固定化アフィニティークロマトグラフィー用充填剤です。モノクローナル抗体の精製に適しています。

構造

TOYOPEARL HW-65  rプロテインA

特長

- 吸着量が高い。(静的吸着量 68 g/L 以上: 高吸着型)
- 速い流速が出せ、短時間で処理できます。(滞留時間 1 分: 高流速型)
- 大型カラムで大量に使用でき、工業化に適しています。
- HPLC システムが使用でき、操作性に優れています。
- アルカリ耐久性に優れ、NaOH 溶液による洗浄、CIP が可能です。
- リガンド (rプロテインA) の漏れが少ない。

主な対象物質

- 抗体
- Fc 融合たんぱく質

一覧表

品 番	品 名	吸着量 (免疫グロブリンG)	容 量	価 格 (円)
0023425	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	≥68 g/L	10 mL	84,000
0023426			25 mL	181,000
0023427			100 mL	363,000
0022803	TOYOPEARL AF-rProtein A-650F	≥45 g/L	10 mL	84,000
0022804			25 mL	181,000
0022805			100 mL	363,000

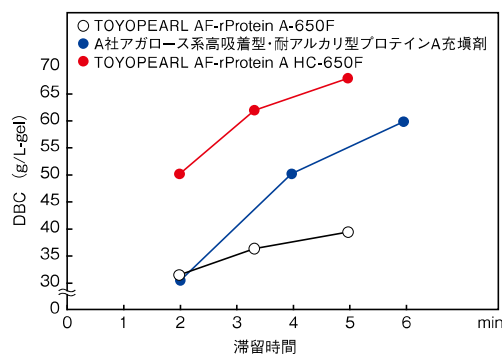
出荷形態: 20 % エタノール水溶液に膨潤した状態で懸濁液として出荷されます。

粒子径 (膨潤時): 30 ~ 60 μm 保存温度: 2 ~ 8 °C

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。大量にご使用の際は、当社営業までお問い合わせください。

プロテイン A リガンド漏出率測定キット (ELISA キット) につきましては、当社営業までお問い合わせください。

IgG の動的吸着量と滞留時間の関係



カラム: TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F

TOYOPEARL AF-rProtein A-650F

A社アガロース系高吸着型・耐アルカリ型プロテインA充填剤

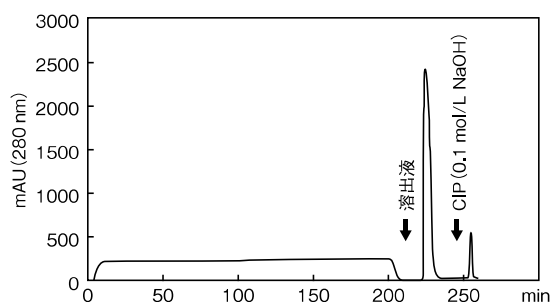
カラムサイズ: 5 mm I.D. × 5 cm

溶離液: 20 mmol/L リン酸緩衝液 + 0.15 mol/L NaCl (pH 7.0)

試料: ヒトポリクローナル IgG (1 g/L)

- 滞留時間 3 分以上で 60 g/L 以上の高い動的吸着量が得られます。

細胞培養液からのモノクローナル抗体の精製



カラム: TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F (5 mm I.D. × 5 cm)

吸着液: 20 mmol/L リン酸緩衝液 + 0.15 mol/L NaCl (pH 7.0)

溶出液: 0.1 mol/L クエン酸緩衝液 (pH 3.0)

流速: 0.2 mL/min

検出: UV (280 nm)

試料: 細胞培養液 40 mL (ヒト IgG₁: 1 g/L)

* 精製画分は、TSKgel G3000SW_{XL} による純度チェックにより、純度 95 % と確認された

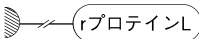
- 一段階の精製で、純度 95 % (SEC 法) の抗体分画が得られています。

抗体特異的 AFC 用充填剤

TOYOPEARL AF-rProtein L-650F

TOYOPEARL AF-rProtein L-650F は、 κ 軽鎖を含む抗体、フラグメント抗体精製用のプロテインL固定化アフィニティークロマトグラフィー用充填剤です。プロテインA 充填剤では適用不可能な Fc 領域を有さない抗体のアフィニティークロマトグラフィー精製が可能になります。

構造

TOYOPEARL HW-65 

特長

- 新規遺伝子組み換えプロテインLリガンドを固定化しています。
- 既存市販品に比較して、吸着量、耐アルカリ性が大幅に向上しています。
- 機械的強度が強く、高速流での使用が可能です、スケールアップが容易です。

主な対象物質

- Fab、scFv等のフラグメント抗体
- IgG、IgM、IgA、IgD、IgE

一覧表

品 番	品 名	吸着量 (免疫グロブリンG)	容 量	価 格 (円)
0023486	TOYOPEARL AF-rProtein L-650F	≥ 64 g/L	10 mL	84,000
0023487			25 mL	181,000
0023488			100 mL	363,000

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)：30 ~ 60 μ m 保存温度：2 ~ 8 $^{\circ}$ C

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。大量にご使用の際は、当社営業までお問い合わせください。

プロテインLリガンド漏出率測定キット (ELISA キット) につきましては、当社営業までお問い合わせください。

Fab 動的吸着量の比較

	Fab 動的吸着量 (g/L)	
	滞留時間 3.4 分	滞留時間 4.0 分
TOYOPEARL AF-rProtein L-650F	33	50
他社品	19	26

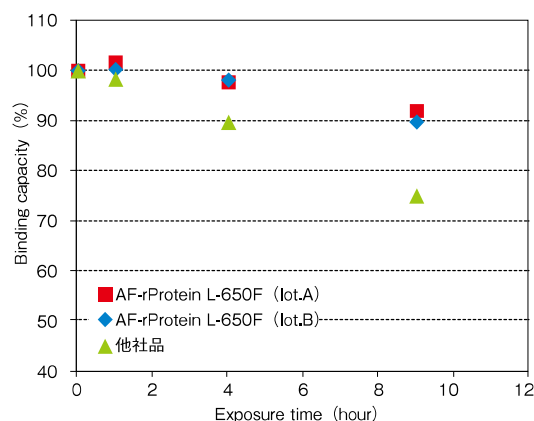
カラムサイズ：4.6 mm I.D. $\times$ 5 cm

吸着液：0.1 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.5)

試料：2 g/L Fab (ポリクローナルヒト免疫グロブリンG由来)

吸着量は 10 % ブレークスルーより算出

耐アルカリ性



- 他社品に比較して、耐アルカリ性が優れています。

0.1 mol/L NaOH 水溶液に浸漬した場合の免疫グロブリンG 静的吸着量変化を調べた結果

群特異的 AFC 用充填剤

TOYOPEARL AF-Heparin HC-650

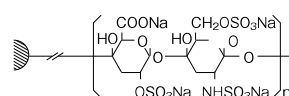
AF-Heparin HC-650は親水性ビニルポリマーを基材としたサイズ排除クロマトグラフィー用充填剤 TOYOPEARL HW-65(たんぱく質排除限界分子量 5×10^6) にヘパリン(ブタ粘膜)を導入した群特異的アフィニティークロマトグラフィー用充填剤です。

▼ 特長

- HPLC システムが使用でき高流量でも流せます。
- 大型カラムで大量に処理でき工業化に適しています。
- 汎用性があります。

▼ 構造

TOYOPEARL HW-65



▼ 主な対象物質

- 血液凝固因子、補体
- RNA 及び DNA ポリメラーゼ
- リポたんぱく質
- 酵素

一覧表

品 番	品 名	容 量	価 格 (円)
0020030	TOYOPEARL AF-Heparin HC-650M	10 mL	9,000
0020031		100 mL	84,000

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): 40 ~ 90 μm 保存温度: 2 ~ 8 $^{\circ}\text{C}$
 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。大量にご使用の際は、当社営業までお問い合わせください。

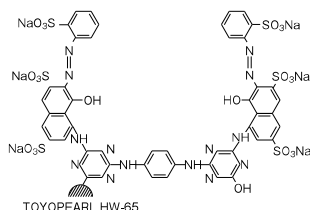
群特異的 AFC 用充填剤

TOYOPEARL AF-Red-650

色素をリガンドとした FFLC 用トヨパールのアフィニティークロマトグラフィー用充填剤です。すぐれた物性をもつ TOYOPEARL HW-65 をベースゲルとし、Reactive Red120 を結合させた群特異的アフィニティークロマトグラフィー用充填剤です。

▼ 構造

● TOYOPEARL AF-Red-650



▼ 特長

- TOYOPEARL HW タイプの特長は全て有しています。
- 速い流速が出せ、短時間で処理できます。
 - 大型カラムで大量に使用でき、工業化に適しています。
 - HPLC システムが使用でき、操作性に優れています。
 - 分離能が優れています。

▼ 主な対象物質

- NAD (P)⁺ 依存性酵素
- 酸化還元酵素、脱水素酵素
- キナーゼ
- プラスミノゲン
- カルボキシペプチダーゼ

一覧表

品 番	品 名	容 量	価 格 (円)
0008651	TOYOPEARL AF-Red-650ML	25 mL	17,000
0008706		500 mL	299,000

出荷形態: 1 mol/L NaCl を含む 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): 40 ~ 90 μm
 保存温度: 2 ~ 8 $^{\circ}\text{C}$
 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。
 大量にご使用の際は、当社営業までお問い合わせください。

たんぱく質結合量

品 名	LDH (g/L)	HK (g/L)
TOYOPEARL AF-Red-650ML	14	2.0

LDH: NAD⁺ 依存性乳酸脱水素酵素 HK: NADP⁺ 依存性ヘキソキナーゼ

数字は主分画のみの回収率を表わしているので、個々の活性の全回収率は 10 ~ 20 % 高くなります。

回収率

酵 素	精製率 (倍)	回収率 (%)
	AF-Red-650ML	AF-Red-650ML
アルコール脱水素酵素	119	68
グルタミン酸脱水素酵素	94	41
6-フォスフォグルコン酸脱水素酵素	58	35
リンゴ酸脱水素酵素	240	178
グルコース-6-リン酸脱水素酵素	188	46
グルタチオン還元酵素	123	49

群特異的 AFC 用充填剤

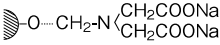
TOYOPEARL AF-Chelate-650

TOYOPEARL AF-Chelate-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) にイミノジ酢酸を導入した金属キレートアフィニティー用充填剤です。

▼ 特長

- HPLCシステムが使用でき高流量でも流せます。
- 大型カラムで大量に処理でき工業化に適しています。
- 汎用性があります。

▼ 構造

TOYOPEARL HW-65 

▼ 主な対象物質

- 金属親和性たんぱく質、ペプチド
- His-tagたんぱく質

▼ 原理

アミノ酸の中で特にヒスチジン、システイン、トリプトファンは、金属と特異的に結合する、という性質を利用するクロマトグラフィーです。充填剤の表面に存在するイミノジ酢酸基に金属を配位させることにより、これらのアミノ酸残基が表面に露出させているたんぱく質を選択的に吸着します。一般に用いられる金属は Cu^{2+} と Zn^{2+} です。 Cu^{2+} は結合力が非常に強く、試料によっては Cu^{2+} にしか結合しないものがあります。 Zn^{2+} は Cu^{2+} に比べ結合力は弱く、試料を選択的に溶出させるのに有効です。

一覧表

品 番	品 名	容 量	価 格 (円)
0014475	TOYOPEARL AF-Chelate-650M	25 mL	24,000
0014476		250 mL	200,000

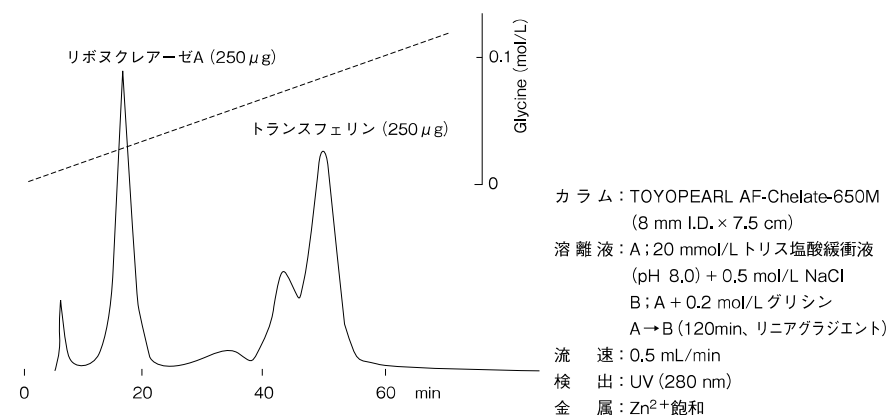
出荷形態：20 % エタノール水溶液に膨潤した状態で懸濁液として出荷されます。

粒子径 (膨潤時)：40 ~ 90 μm

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。

大量にご使用の際は、当社営業までお問い合わせください。

▼ たんぱく質の分離



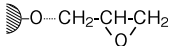
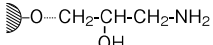
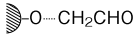
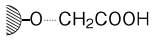
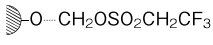
- 溶出方法には、pHグラジエントやイミダゾールグラジエントを行うことができます。

活性化型 AFC 用充填剤

TOYOPEARL AF-Epoxy-650 TOYOPEARL AF-Amino-650 TOYOPEARL AF-Formyl-650 TOYOPEARL AF-Carboxy-650 TOYOPEARL AF-Tresyl-650

群特異的アフィニティー用充填剤同様 TOYOPEARL HW-65 (たんぱく質排除限界分子量 5×10^6) をベースゲルとした充填剤です。活性基にリガンドを導入してご使用ください。

構造

- TOYOPEARL AF-Epoxy-650
TOYOPEARL HW-65 
- TOYOPEARL AF-Amino-650
TOYOPEARL HW-65 
- TOYOPEARL AF-Formyl-650
TOYOPEARL HW-65 
- TOYOPEARL AF-Carboxy-650
TOYOPEARL HW-65 
- TOYOPEARL AF-Tresyl-650
TOYOPEARL HW-65 

特長

- リガンド導入の際、きびしい反応条件が使用可能です。
(例) 強酸、強アルカリ、有機溶媒
- ハードな条件で洗浄可能です。
(例) 強酸、強アルカリ、有機溶媒
- 溶出分離に種々の溶出液が使えます。
(例) 界面活性剤、有機溶媒
- 高流速で流せます。
- 塩濃度の変化で体積変化がありません。
- 工業用に適した物理化学的性質を持っています。
- 粒子径 (膨潤時) 40~90 μm

一覧表

品 番	品 名	容 量	価 格 (円)
0008000	TOYOPEARL AF-Epoxy-650M*4	10 g (乾燥品)	19,000
0008038	TOYOPEARL AF-Epoxy-650M*4	100 g (乾燥品)	172,000
0008002	TOYOPEARL AF-Amino-650M	25 mL*1	15,000
0008039	TOYOPEARL AF-Amino-650M	100 mL*1	52,000
0008004	TOYOPEARL AF-Formyl-650M*3	25 mL*2	15,000
0008040	TOYOPEARL AF-Formyl-650M*3	100 mL*2	52,000
0008006	TOYOPEARL AF-Carboxy-650M	25 mL*1	13,000
0008041	TOYOPEARL AF-Carboxy-650M	100 mL*1	48,000
0014471	TOYOPEARL AF-Tresyl-650M*3 *4	5 g (乾燥品)	19,000
0014472	TOYOPEARL AF-Tresyl-650M*3 *4	100 g (乾燥品)	345,000

出荷形態：*1：20 % 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。

*2：1 % グルタルアルデヒド

*3：保存温度：2~8℃

*4：吸湿注意

大量にご使用の際は、当社営業までお問い合わせください。

TOYOPEARL AF-Tresyl-650Mへのたんぱく質の固定化率

たんぱく質 (pI)	固定化用緩衝液	
	0.1 mol/L NaHCO ₃ +0.5 mol/L NaCl(pH 8.0)	1.0 mol/L リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.5)
α ₁ 酸性グリコたんぱく質 (1.8~2.8)	2.3 %	58 %
α-1-アンチトリプシン (4.0)	25	98
大豆トリプシンインヒビター (4.3~4.6)	85	—
ウシ血清アルブミン (4.9)	31	99
ヒトグロブリン (5.8~7.3)	80	—
ミオグロビン (6.8~7.8)	55	99
α-キモトリプシン (9.1)	70	100
チトクロムC (10.1)	43	46
リゾチーム (11.0)	100	—

たんぱく質：各10 g/L、温度：25℃、時間：4時間

1.0 mol/L リン酸カリウム緩衝液を用いると、等電点にかかわらず、たんぱく質を効率良く固定化することができます。

固定化方法に関しては、TSKgel Tresyl-5PWの項 (P. 71) をご参照ください。

活性化型AFC用充填剤へのリガンドの標準固定化条件

TOYOPEARL	リガンドの官能基	固定化条件		
		カップリング溶液	添加剤	反応時間
AF-Epoxy-650	アミノ基	pH 9~11の水溶液	無	40℃、24 h
	チオール基	pH 7~8の水溶液	無	25℃、24 h
	水酸基	0.1 mol/L 水酸化ナトリウム (反応性は低い)	無	40℃、24 h
AF-Amino-650	カルボキシ基	pH 4~6の水溶液	EDC* ¹	25℃、24 h
	アルデヒド基	0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 7)	NaCNBH ₃	25℃、24 h
AF-Formyl-650	アミノ基	0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 7)	NaCNBH ₃	25℃、16 h
AF-Carboxy-650	アミノ基	pH 4~6の水溶液	EDC* ¹	25℃、24 h
AF-Tresyl-650	アミノ基及びチオール基	1.0 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 7~8)* ²	無	25℃、4 h
		0.1 mol/L 炭酸塩緩衝液 (pH 8.5) + 0.5 mol/L NaCl* ³	無	25℃、16 h

*¹ EDC:1-エチル-3-(3-ジメチル-アミノプロピル)カルボジイミド*² ペプチド、たんぱく質、核酸の固定化用*³ 一般低分子固定化用

TOYOPEARL AF-Epoxy-650Mへのリガンド固定化量

リガンド	固定化量 (mmol/L)	リガンド	固定化量 (mmol/L)	リガンド	固定化量 (mmol/L)
■ 抗生物質		■ アミノ酸		■ チオール化合物	
バシトラシンA	21	L-アスパラギン酸	4	メルカプトエタノール	156
アンピシリン	95	L-リジン	20	グルタチオン	52
グラミジシンS	24	L-トリプトファンメチルエステル	35	■ 糖類	
セファロsporin C	19	L-グリシン	100	D-グルコサミン	28
				β-シクロデキストリン	3
				■ アミン類	
				スベルミン	40
				スベルミジン	47

TOYOPEARL AF-Amino-、AF-Carboxy-、AF-Formyl-650Mにおけるたんぱく質固定化収率

たんぱく質	pI	固定化収率 (%)		
		AF-Amino	AF-Carboxy	AF-Formyl
オブアルブミン	4.2	36	5	3 (16*)
トリプシンインヒビター	4.3-4.6	45	87	—
ウシ血清アルブミン	4.9	94	19	24 (64*)
トランスフェリン	4.9-6.2	—	—	35 (50*)
ヒトIgG	5.8-7.3	31	52	66
ミオグロビン	8.1	—	—	43
チトクロムC	10.1	18	47	65
リゾチーム	11.0-11.4	30	77	99

固定化条件：ゲル2 g (湿潤)：たんぱく質40 mg

カップリング溶液：0.5 mol/L NaCl (pH 4.5~6) + EDC 60 mg (AF-Amino、AF-Carboxy)

0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 7) + 100 mg NaCNBH₃ (AF-Formyl)

*0.1 mol/L MOPS緩衝液 (pH 7.5) + 80 mmol/L 塩化カルシウム