

02

中速液体クロマトグラフィー用充填剤、充填カラム 〈TOYOPEARL / TSKgel PW〉

- P. 144 – P. 145 トヨパールの商品概要、バリデーション
- P. 146 – P. 147 トヨパールの特長、使用法・充填法
- P. 148 – P. 149 サイズ排除クロマトグラフィー
- P. 150 – P. 153 イオン交換クロマトグラフィー
- P. 154 – P. 157 疎水クロマトグラフィー
- P. 158 – P. 159 ミックスモードクロマトグラフィー
- P. 160 – P. 165 アフィニティークロマトグラフィー
- P. 166 – P. 167 高速分取クロマトグラフィー
- P. 168 – P. 169 ToyoScreen (スクリーニング用カラム)
- P. 170 MiniChrom
- P. 171 RoboColumn
- P. 174 – P. 175 カラムのスケールアップ
- P. 176 – P. 177 工業スケールでの分取
- P. 178 – P. 179 トヨパールの洗浄

TOYOPEARL For Fast Flow Liquid Chromatography

トヨパール

トヨパールは、従来の分離剤と比べ速い流速で使用でき体積変化もなく、強酸、強アルカリ及び有機溶媒に対しても安定であるためたんぱく質をはじめさまざまな試料の前処理・精製に適しています。また、GMP、バリデーション支援・試験データも充実しており、医薬品などの分離にもお使いいただけます。

トヨパールは、親水性のビニルポリマーを基材とし、従来の分離剤とは異なった特長を持つ半硬質全多孔性球状のFFLC (Fast Flow Liquid Chromatography) 用充填剤です。速い流速で使用できるため、分取用及び大型工業用分離剤として適します。トヨパールは高流速で高分離を示すことにより、FFLC用分離剤として多用されています。充填剤の他に、トヨパールを更に利用し

やすくするためにスクリーニング用カラム (ToyoScreen) や充填カラムを併せて発売しています。

▼
主な対象物質

- 酵素、たんぱく質、糖類、抗生物質など
- 生体関連物質の分離精製、脱塩
- 医薬品の分離・精製

バイオバーデン対応

工業的使用に対応

トヨパール総合カタログ、トヨパールニュースもあわせてご参照ください。

▼
製品概要

充填剤	サイズ排除クロマトグラフィー用		TOYOPEARL HWタイプ
	イオン交換クロマトグラフィー用	陰イオン交換体	TOYOPEARL GigaCap Q-650
			TOYOPEARL GigaCap DEAE-650
			TOYOPEARL SuperQ-650
			TOYOPEARL DEAE-650
			TOYOPEARL Q-600 AR
		陽イオン交換体	TOYOPEARL QAE-550
			TOYOPEARL NH ₂ -750
			TOYOPEARL GigaCap S-650
			TOYOPEARL GigaCap CM-650
			TOYOPEARL SP-650
	疎水クロマトグラフィー用	650シリーズ	TOYOPEARL CM-650
			TOYOPEARL SP-550
			TOYOPEARL MegaCap II SP-550
TOYOPEARL Sulfate-650			
600シリーズ		TOYOPEARL Hexyl-650	
		TOYOPEARL Butyl-650	
		TOYOPEARL Phenyl-650	
550シリーズ (高吸着タイプ)	TOYOPEARL Ether-650		
	TOYOPEARL Phenyl-600		
ミックスモードクロマトグラフィー用	650シリーズ	TOYOPEARL Butyl-600	
		TOYOPEARL PPG-600	
アフィニティークロマトグラフィー用	群特異的AFC用	TOYOPEARL SuperButyl-550	
		TOYOPEARL MX-Trp-650M	
アフィニティークロマトグラフィー用	活性化型AFC用	TOYOPEARL AF-650タイプ	
		TOYOPEARL AF-650タイプ	
充填カラム	プロセス開発用カラム	ToyoScreenシリーズ	
		MiniChromシリーズ	
	セミ分取用、工業用	RoboColumnシリーズ	
		特別注文にてお受けします※	

※詳細な点やトヨパール充填大口径カラムについては、当社営業までお問い合わせください。

トヨパール

トヨパールのGMP、バリデーション支援データ、法規制関連資料

医薬品などの製造にトヨパールをご使用いただくため、当社では、トヨパールの各種基礎データの充実を図り、GMPやバリデーション支援を行っています。

▼
法規制関連

- 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）に関する届出
- 少量新規化学物質に関する申出
- 安全データシート（SDS）の作成

▼
GMP、バリデーション支援・試験データ

- バイオバーデン対応（医薬品等の製造原料の微生物汚染に関する品質保証）
- 製品の長期放置安定性試験
- 製品溶液中の全有機炭素（TOC）定量試験
- 製品中の残留モノマー確認試験
- 有機溶媒洗浄における溶出物の定量試験
- 製品の安全性試験（毒性試験、変異原性試験等）
- アルカリ溶液中での長期放置安定性試験
- アルカリ溶液中での溶出物の同定試験
- アルカリ溶液を用いたCIPにおける耐久性試験
- トヨパールCIPマニュアル

※上記試験データの内容等の詳細については、当社営業までお問い合わせください。

※上記試験データは、そのグレード、数値を保証するものではありません。

※トヨパールのバリデーションを含めたインハウスセミナーも行ってまいります。詳細は、当社営業までお問い合わせください。

※工業スケールでの使用に関しましてはP.176を参照ください。



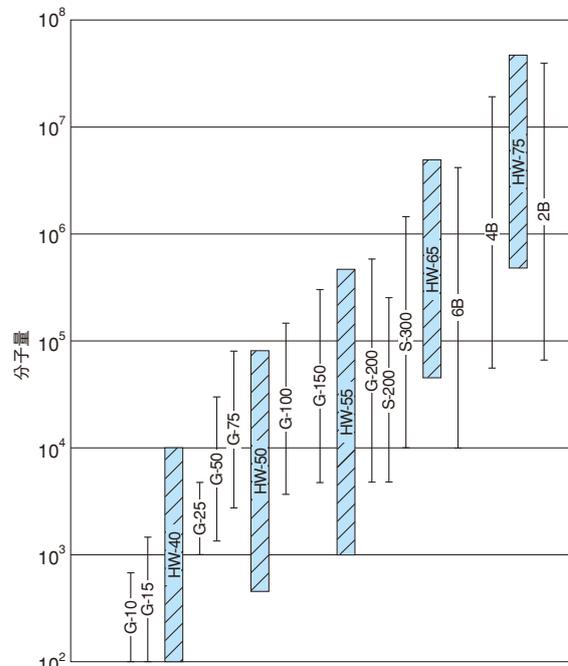
トヨパール

▼
特長

- 流速アップ
非常に固く、高流速での分離が可能のため、分析時間が大幅に短縮できます。
- 一般的使用方法
カラム寸法 20 mm I.D.×70 cm (ゲルろ過、HW-55F) の場合、ペリスタリックポンプにより、充填圧力 0.15 ~ 0.25 MPa で充填し、溶出流速 1 ~ 1.5 mL/min 程度が最も一般的な使い方です。
- 他社の軟質充填剤・半硬質充填剤では、流速を上げられません。従って工業的使用 (大口径カラム) の際には特に大きな差が出ます。
- 小スケールから工業的使用へのスケールアップがスムーズに進みます。

▼
他社品との分画範囲の関係

トヨパールとGEヘルスケア・ジャパン社の充填剤製品との分画範囲の関係を示します。

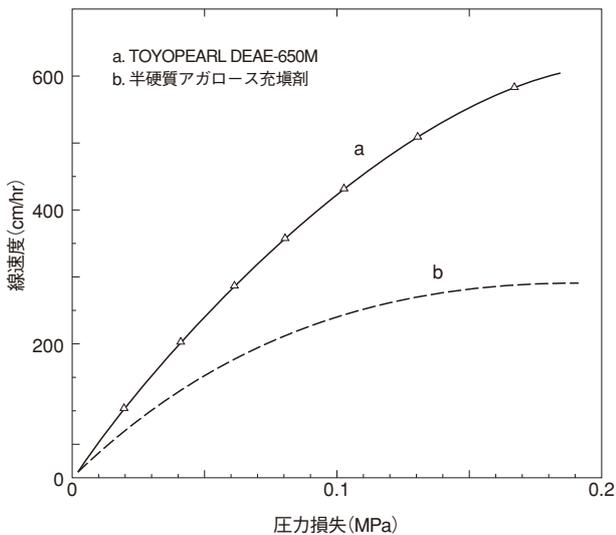


● 球状たんぱく質等の分画範囲

▨ TOYOPEARL HWタイプ

┆ セファデックス
セファクリル
セファローズ

* セファデックス、セファクリル、セファローズは GEヘルスケア・ジャパン社の登録商標です。

▼
線速度と圧力損失との関係 (水通液時)

TOYOPEARL DEAE-650M と半硬質アガロース充填剤との圧力損失の比較
(カラム寸法: 108 mm I.D.×30 cm)

トヨパール

トヨパールの使用法・充填法

無加圧でも、ポンプまたは落差圧で圧力をかけた加圧状態でも充填できます。

但し、粒子径が小さく設定されていますので、圧力をかけないと大きなカラムでは流速が非常に遅くなります。

このような場合には、溶出液槽の位置をたとえば1 m程度高くし落差をつけるか、またはポンプ使用により加圧します。

詳細につきましては「TOYOPEARL、TSKgel PW充填及び使用法ガイド」を参照ください。

スラリーの調製

1. 微粒子の除去

微粒子の混在はフィルタの目づまりの原因となり流速の低下をまねくこととなります。次の要領で微粒子を除去します。

● 除去方法の一例

—TOYOPEARL DEAE-650S 250 mLの場合—

- ① 懸濁液 250 mLを2 Lのビーカーに取り出し水を約750 mL入れて合計1 Lとする。
- ② 次に2～3分よく攪拌する。
- ③ 1.5時間静置後上澄の浮遊微粒子含有部約500～600 mLを捨てる。
- ④ 以上の操作を3～4回くり返す。
これは最も細かいSuper Fineの例で

あり、粒子径の大きいMediumでは、静置時間を短くします。

2. 必要充填剤量

充填法により異なります。加圧しないで充填する方法は、カラム体積よりいくらか多めに取ります。

加圧して充填する場合には、カラム体積のおおよそ20%増程度が必要となります。

3. 洗浄

ほとんどのトヨパールは20%エタノール水溶液に懸濁して出荷されますので、使用に先だってグラスフィルタ上で、充填剤の約3倍以上の水で洗浄する必要

があります。

4. 濃度の調製

- ① デカンテーションで微粒子を除去した充填剤を、充填剤容積の3倍量の充填溶媒で2～3回洗浄します。
- ② 洗浄後、カラム容積の1.2倍量の充填剤をメスシリンダーで計量します。
- ③ スラリー濃度が30～50%になるように充填溶媒を加えてスラリー化します。充填には、分離に使用する溶液のうち最も塩濃度の高い溶液(例えばIECの場合、0.5 mol/L NaCl溶液等)を用います。

カラムへの充填

充填法

以下にTOYOPEARL HWタイプの充填を行うに当たっての注意点を示します。

- ① トヨパールの充填は、緩和な加圧条件(50～数100 kPa)でおこなうのが最適です。この観点からペリスタリックポンプ(HPLC用ポンプも使用可能)を使用する充填法が最も好ましいものといえます。HPLC用充填剤の場合のように高圧下での充填は、お勧めできません。
- ② 簡便法である自然落差充填法においては、トヨパールはどんな水圧をかけてもつぶれることはありません。むしろ、できるだけ水圧を大きく取っていただく方が性能の良いカラムが得られます。また充填溶媒を加温し粘性を下げるなどして、充填流速を大きくすることも良い効果をもたらします。
- ③ 懸濁液中に浮遊微粒子が存在すると、フィルタが目づまりし、圧力上昇、流速低下が起きます。デカンテーションにより浮遊物を取り除いてください。

各種充填法の比較

項目	ペリスタリックポンプによる充填法		自然落差による充填法	
	1. 定流速法	2. 半定圧法	3. リザーバ使用法	4. 簡易法(加温)
特 充填流速	○速い	◎速い(1よりも速い)	×遅い	×遅い(3よりも速い)
特 使用流速	○大きいところまで可能	◎大きいところまで可能	×使用流速が制限される	×使用流速が制限される
徴 充填における再現性	○良い	◎非常に良い	○良い	○良い
必要な器具	ポンプ	×必要	×必要	○不要
	リザーバ	×必要	×必要	○不要
	圧力計	△使用する方が良い	×必要	○不要

* HPLC用ポンプも使用可能

(○長所、×短所)

定流速充填法における充填流速

各種HW充填剤の充填流速

品名	カラムサイズ mm I.D.×cm	流速 mL/min	線速度 cm/h
HW-40F	10×60	1.0～1.4	70～110
	16×60	2.4～3.0	70～90
	22×60	4.0～5.0	60～80
	44×60	10.0～14.0	40～60
HW-55F HW-50F	16×60	2.0～3.0	60～85
	32×60	6.0～9.0	45～65
	44×60	1.0～6.0	45～65
	22×30	6.0～8.0	95～130
	22×45	4.0～6.0	65～90
	22×60	3.0～5.0	50～70
22×90	2.4～3.0	35～55	
HW-65F HW-75F	22×60	2.5～10.0	40～150
	22×60	2.5～10.0	40～150

* 使用流速は充填流速の半分以下に設定してください。

各種充填剤の充填流速及び使用流速

品名	カラムサイズ (mm I.D.×cm)	グレード	充填流速		使用線速度
			mL/min	cm/h	cm/h
HW-40	22×60	S	2.0～2.5	30～40	10～25
			4.0～5.0	60～80	25～50
			8.0～10.0	120～160	50～100
HW-50、HW-55	22×60	S	1.5～2.0	25～35	10～20
			3.0～5.0	50～70	25～35
			6.0～8.0	90～130	35～70
HW-65、HW-75	22×60	S	1.5～5.0	20～75	10～15
			2.5～10.0	40～150	15～30
			5.0～20.0	30～300	30～65
IEC	22×20	S	<35	<550	45～65
			<65	<1000	80～240
HIC	22×20	S	<35	<550	45～65
			<65	<1000	80～240
AF-650タイプ	22×10	M	<65	<1000	30～130