

# 疎水クロマトグラフィー用充填剤

TOYOPEARL Butyl-600  
TOYOPEARL PPG-600

TOYOPEARL Butyl-650  
TOYOPEARL SuperButyl-550

TOYOPEARL Hexyl-650

TOYOPEARL Phenyl-600

TOYOPEARL Phenyl-650

TOYOPEARL Ether-650

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 $5 \times 10^6$ ）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）に適したポアサイズをもつ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 SuperButyl-550はHW-55（たんぱく質排除限界分子量 $7 \times 10^5$ ）にブチル基を導入した高吸着タイプの充填剤です。

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。しかも吸着したたんぱく質を水溶液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

- 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。
- アイソザイム等の分離精製に適します。
- SuperButyl-550は高吸着量タイプで、キャプチャー工程や中間精製に適しています。
- 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。

## ▼ 充填剤の選択

- TOYOPEARL Ether-650 < PPG-600 < Phenyl-650 < Butyl-650、Phenyl-600、Butyl-600、SuperButyl-550 < Hexyl-650の順に充填剤の疎水性が強くなっていきます。
- Butyl-650が最も一般的ですが、疎水性の強いたんぱく質にはPPG-600、Ether-650が適しています。逆に、疎水性の弱いたんぱく質にはHexyl-650をお使いください。
- 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、Butyl-600、Phenyl-600は抗体（IgG）の分離に適しています。

## ▼ 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、アイソザイム

## ▼ 構造


- TOYOPEARL Hexyl-650

TOYOPEARL HW-65 ヘキシル基

- TOYOPEARL Butyl-650

- TOYOPEARL Butyl-600

- TOYOPEARL SuperButyl-550

TOYOPEARL HW-65 ブチル基  
HW-60  
またはHW-55

- TOYOPEARL Phenyl-650

- TOYOPEARL Phenyl-600

TOYOPEARL HW-65 フェニル基  
またはHW-60

- TOYOPEARL PPG-600

TOYOPEARL HW-60 ポリプロピレングリコール基

- TOYOPEARL Ether-650

TOYOPEARL HW-65 オリゴエチレングリコール基

（技術資料）

東ソー研究・技術報告47（2003）21-27

## 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 Hexyl-650	100 mL	—	—	—	—	0019026	27,000
TOYOPEARL Butyl-650	100 mL	0007476	33,000	0007477	20,000	0007478	20,000
TOYOPEARL SuperButyl-550	100 mL	—	—	—	—	0019956	31,000
TOYOPEARL Phenyl-650	100 mL	0014477	33,000	0014478	20,000	0014479	20,000
TOYOPEARL Ether-650	100 mL	0016172	33,000	0016173	20,000	—	—
TOYOPEARL Phenyl-600	100 mL	—	—	0021888	31,000	—	—
TOYOPEARL PPG-600	100 mL	—	—	0021302	31,000	—	—
TOYOPEARL Butyl-600	100 mL	—	—	0021449	31,000	—	—

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

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。

ToyoScreen もご利用いただけます。：トヨパールを充填した初期スクリーニング用カラムです。(詳しくはP.168参照)

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。

## たんぱく質吸着量(動的吸着量)

たんぱく質	吸着量 (g/L)				
	TOYOPEARL Phenyl-600M	TOYOPEARL Butyl-600M	TOYOPEARL Phenyl-650M	TOYOPEARL PPG-600M	フェニルタイプ アガロース(他社品)
免疫グロブリンG (155 kDa)	35	29	16	3	32
リゾチーム (14.4 kDa)	58	—	27	—	52

吸着条件；0.1 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.8) + 0.8 mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

- 600シリーズは、抗体(IgG)の分離に適した細孔径を有しています。PPG-600Mは、疎水性の高い抗体(IgG)の分離に適しています。

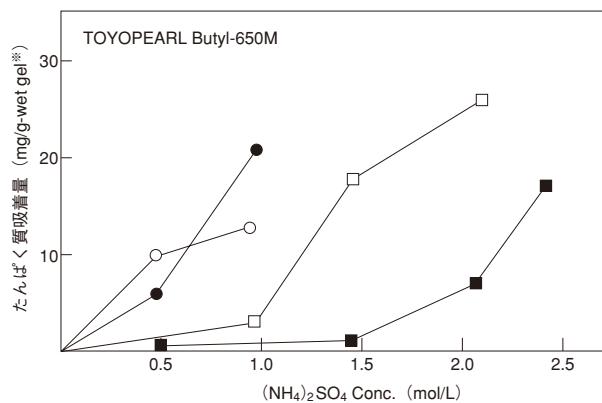
## たんぱく質の吸着量

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 リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) + 2.0 mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Butyl-650MまたはEther-650M) または + 1.5 mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Phenyl-650M)

## たんぱく質吸着量の塩濃度依存性

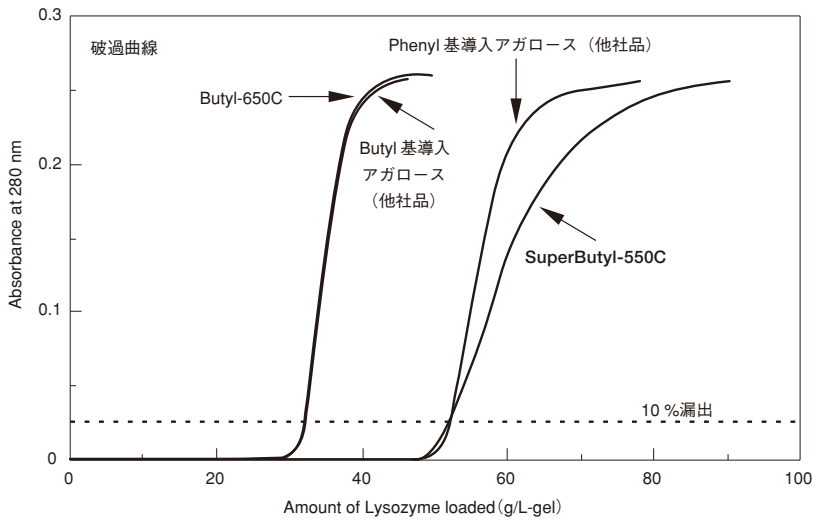
たんぱく質の種類及び塩濃度によりたんぱく質の吸着量は大きく変化します。Butyl-650Mへのたんぱく質の吸着量と塩濃度の関係を示します。



- ：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

## たんぱく質動的吸着量の比較（他社品との比較）



充填剤	動的吸着量（10%漏出） (g/L-gel)
SuperButyl-550C	52
Butyl-650C	32
Butyl基導入アガロース（他社品）	32
Phenyl基導入アガロース（他社品）	52

カラムサイズ；10.6 mm I.D.×20 cm

試料；1 mg/mL リゾチーム  
(0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 + 1.8 mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
(pH 7.0) に溶解)

流速；4.4 mL/min (300 cm/h)

検出；UV (280 nm)

## たんぱく質の回収率

たんぱく質	Butyl-650M	Phenyl-650M	Ether-650M
オブアルブミン	73 %	88 %	83 %
リゾチーム	85	92	84
α-キモトリプシノーゲンA	90	82	96
ウシ血清アルブミン	53	62	84
α-ラクトアルブミン	39	99	90

● いずれの充填剤においても、吸着の弱いたんぱく質（オブアルブミン、リゾチーム、α-キモトリプシノーゲン）では高い回収率が得られていますが、吸着の強いウシ血清アルブミンやα-ラクトアルブミンでは疎水性が弱いEther-650が高い回収率を示しています。

カラムサイズ；7.5 mm I.D.×7.5 cm

溶離液；A: 0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) + 1.8 mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

B: 0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 7.0)

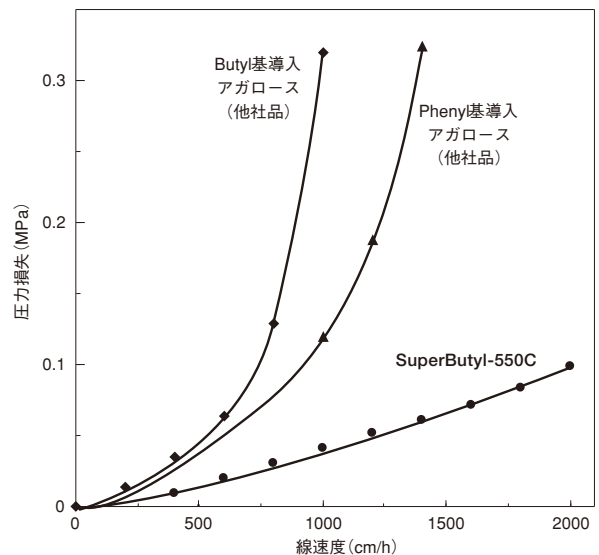
A→B (60 min、リニアグラジエント)

流速；1.0 mL/min

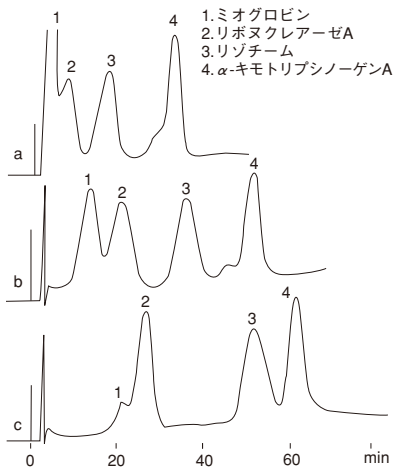
検出；UV (280 nm)

▼  
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

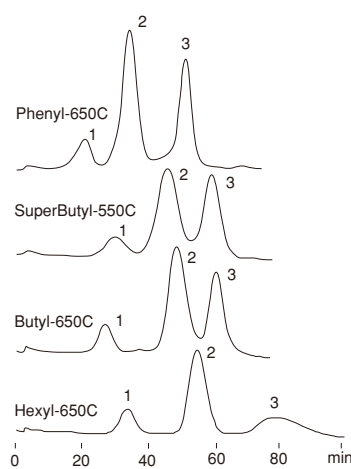


## たんぱく質分離の比較 (1)



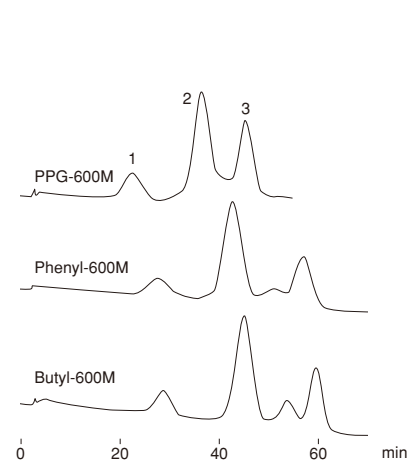
カラム; a: TOYOPEARL Ether-650M (7.5 mm I.D. × 7.5 cm)  
b: TOYOPEARL Phenyl-650M (7.5 mm I.D. × 7.5 cm)  
c: TOYOPEARL Butyl-650M (7.5 mm I.D. × 7.5 cm)  
溶離液; A: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0)  
+ 1.8 mol/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
B: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0)  
A → B (60 min, リニアグラジエント)  
流速; 1.0 mL/min  
検出; UV (280 nm)

## たんぱく質分離の比較 (2)



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  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
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)  
注入量; 100  $\mu\text{L}$   
試料; 1. リボヌクレアーゼA (1 g/L) 2. リゾチーム (1 g/L)  
3.  $\alpha$ -キモトリプシノーゲンA (1 g/L)

## たんぱく質分離の比較 (3)

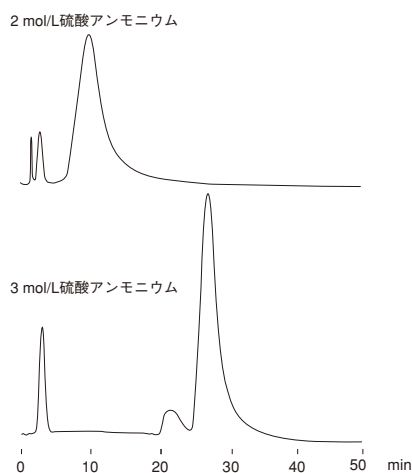


カラムサイズ; 7.5 mm I.D. × 7.5 cm  
溶離液; A: 0.1 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.8)  
+ 1.8 mol/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
B: 0.1 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.8)  
A → B (60 min, リニアグラジエント)  
流速; 1.0 mL/min  
検出; UV (280 nm)  
試料; 1. リボヌクレアーゼA 2. リゾチーム  
3.  $\alpha$ -キモトリプシノーゲンA

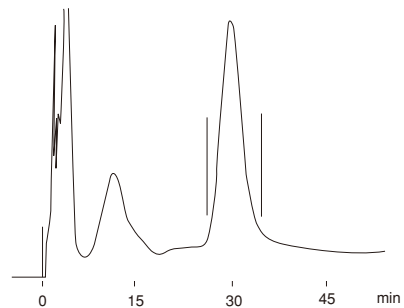
疎水基の種類により異なる分離を行うことができます。

- Ether-650は、疎水性の強いたんぱく質に適しています。
- SuperButyl-550とButyl-650は、ほぼ同等の疎水性です。
- SuperButyl-550、Butyl-650、Phenyl-650はほとんど全てのたんぱく質を吸着分離することができます。

## 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  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
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  $\mu\text{g}$  in 90  $\mu\text{L}$  (2 mol/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  を含む)  
試料; プラスミド pBR322

モノクローナル抗体 (IgG<sub>1</sub> 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  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
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。