TOYOPEARL/TSKgel PW

イオン交換クロマトグラフィー用充塡剤

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 TOYOPEARL QAE-550

陽イオン交換体

TOYOPEARL NH2-750

TOYOPEARL GigaCap S-650
TOYOPEARL GigaCap CM-650
TOYOPEARL SP-650
TOYOPEARL CM-650
TOYOPEARL SP-550
TOYOPEARL MegaCap II SP-550
TOYOPEARL Sulfate-650

トヨパールイオン交換体 Giga Cap シリーズ及び 650 シリーズ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塡剤TOYOPEARL HW-65(たんぱく質排除限界分子量5×10⁶)に種々のイオン交換基を導入したFFLC用充塡剤です。

GigaCapシリーズ及びSuperQタイプは、 高吸着量・高分離能で工業用分取に適し ています。

TOYOPEARL Q-600C ARは高吸着タイ プのイオン交換体でアルカリ耐久性が向上 しており、1 mol/L水酸化ナトリウム溶液 での繰り返し洗浄や長期保存も可能です。 トヨパールイオン交換体550シリーズ 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塡剤 TOYOPEARL HW-55 (たんぱく質排除 限界分子量7×10⁵) にイオン交換基を 導入した、高吸着量タイプのFFLC用充 塡剤です。工業用分取に適しています。 TOYOPEARL MegaCap II SP-550EC はペプチドや比較的低分子量のたんぱく 質の分離に適しており、粒子径が大きく (100~300 µm)、かつ、物理的安定性が 優れているため、高流速で使用できます。

特長

- ●TOYOPEARL HWタイプの特長は全 て有しています。
- ●塩濃度の変化で体積変化がありません。
- ●pHの変化で体積変化がありません。
- ●耐圧性に優れています。
- ●GigaCapシリーズは、特に高吸着量 タイプで、大量処理が必要なキャプ チャー工程や中間精製工程での試料処 理に適しています。
- SuperQ-650及び550シリーズは高吸 着量で、工業用分取に適しています。
- ●TOYOPEARL Q-600C ARはアルカリ 耐久性に優れ、キャプチャー工程や、塩 濃度の高い試料の処理に適しています。
- ■TOYOPEARL MegaCap II SP-550EC は大量処理が必要なキャプチャー工程 や高粘度の試料の処理に適しています。
- ●TOYOPEARL NH2-750Fは塩耐性陰 イオン交換体です。 試料や吸着溶離液 に塩が含まれていても高い吸着量を示 します。

主な対象物質

- ●たんぱく質、ペプチド
- ●酵素
- ●核酸、オリゴヌクレオチド
- ●イオン性糖類

イオン交換基

- ●TOYOPEARL GigaCap Q-650 TOYOPEARL SuperQ-650 TOYOPEARL Q-600 AR TOYOPEARL QAE-550 第4級アンモニウム基
- ●TOYOPEARL GigaCap DEAE-650 TOYOPEARL DEAE-650 第3級アミノ基
- ●TOYOPEARL NH2-750 第1級アミノ基(ポリアミン)
- ●TOYOPEARL GigaCap S-650 スルホ基
- ●TOYOPEARL SP-650 TOYOPEARL SP-550 TOYOPEARL MegaCap II SP-550 スルホプロピル基
- TOYOPEARL GigaCap CM-650 TOYOPEARL CM-650 カルボキシメチル基
- ●TOYOPEARL Sulfate-650 硫酸エステル基

(技術資料)

東ソー研究・技術報告50 (2006) 59-62 東ソー研究・技術報告56 (2012) 35-41 東ソー研究・技術報告57 (2013) 29-35

トヨパール(イオン交換クロマトグラフィー)



陰イオン交換体									
品名	交換容量	交換容量 吸着量	□	S		M		C	
品 名 	(eq/L)	(g/L)	容 量	品 番	価格(円)	品 番	価格(円)	品 番	価格(円)
TOYOPEARL GigaCap Q-650	0.10~0.20*1)	<u>≥162*3)*5)</u>	250 mL	0022882	68,000	0021855*6)	44,000		
TOYOPEARL GigaCap DEAE-650	0.15~0.25	≥156* ³)* ⁵)	250 mL			0022866*6)	44,000		
TOYOPEARL SuperQ-650	0.20~0.30	105~155*3)	250 mL	0017223	51,000	0017227	33,000	0017231	33,000
TOYOPEARL DEAE-650	0.08~0.12*2)	25~35*3)	250 mL	0007472	45,000	0007473	22,000	0007988	22,000
TOYOPEARL Q-600 AR	0.14~0.23	≥120* ³⁾	250 mL					0021986	44,000
TOYOPEARL QAE-550	0.28~0.38	60~80*3)	250 mL					0014026	33,000
TOYOPEARL NH2-750	0.07~0.13	≥70*4)	250 mL			0023439*7)	44,000		
交換容量	吸着量			粒子径(膨潤)	時)		出荷形態		

*1) Sグレード: 0.14~0.24 eq/L *2) Cグレード: 0.05~0.11 eq/L *3) ウシ血清アルブミンにて測定 *4)ヒト免疫グロブリンGにて測定

*5) Sグレード:≧170 g/L

S (Super Fine ; 20 \sim 50 $\mu\,\mathrm{m})$

C (Coarse ; $50 \sim 150 \,\mu\,\text{m}$)

*6) 50~100 μm

*7) F (Fine; $30\sim60 \mu m$)

M (Medium ; $40 \sim 90 \mu m$) で懸濁液として出荷されます。

	陽イ	オ	ン	'交	換	体	
--	----	---	---	----	---	---	--

陽イイノ文採件									
	交換容量	吸着量	容 量	S		M		C	
品 名	(eq/L)	(g/L)	台里	品 番	価格(円)	品 番	価格(円)	品 番	価格(円)
TOYOPEARL GigaCap S-650	0.10~0.20*1)	136~176*4)*7)	250 mL	0022876	68,000	0021834*10	44,000		
TOYOPEARL GigaCap CM-650	0.17~0.28	<u>≥110*4</u>	250 mL			0021947*10	44,000		
TOYOPEARL SP-650	0.13~0.17*2)	40~60*5)*8)	250 mL	0008437	45,000	0007997	22,000	0007994	22,000
TOYOPEARL CM-650	0.08~0.12*3)	30~50*5)*9)	250 mL	0007474	45,000	0007475	22,000	0007991	22,000
TOYOPEARL SP-550	0.14~0.18	80~120*5)	250 mL					0014028	33,000
TOYOPEARL MegaCap II SP-550	0.10~0.20	100~155*6)	250 mL					0021805*11)	33,000
TOYOPEARL Sulfate-650	≧0.53	<u>≥114*4</u>)	250 mL			0023468*12)	53,000		



交換容量

*1) Sグレード:0.15~0.25 eq/L

*2) Cグレード:0.12~0.18 eq/L

*3) Cグレード:0.05~0.11 eq/L

吸着量

*4)ヒト免疫グロブリンGにて測定

*5) リゾチームにて測定

*6) ヒト組換えインスリンにて測定 *7) Sグレード:≧150 g/L

*8) Cグレード:≧35~55 g/L *9) Cグレード:≧25~45 g/L 粒子径(膨潤時)

S (Super Fine; 20 \sim 50 μ m) M (Medium ; $40 \sim 90 \mu m$)

C (Coarse ; $50 \sim 150 \,\mu\,\text{m}$)

*10) 50~100 μm

*11) EC (Extra Coarse; $100\sim300 \mu \text{ m}$) *12) F (Fine; 30 \sim 60 μ m)

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。(Sulfate-650を除く) Sulfate-650 は、0.2 mol/L酢酸 ナトリウム を含む20%エタノールに膨潤した状態で懸 濁液として出荷されます。

20%エタノール水溶液に膨潤した状態

ToyoScreenもご利用いただけます。 トヨパールを充塡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)

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

●トヨパールイオン交換体はいずれも高い試料回収率を示すと共に、吸着量、分離能、機械的強度にも優れています。

陰イオン交換体のたんぱく質の吸着量(動的吸着量)

12 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	(
吸着量(g/L)								
たんぱく質	TOYOPEARL	TOYOPEARL	TOYOPEARL	TOYOPEARL	TOYOPEARL	TOYOPEARL		
72.70 to C. Q.	DEAE-650M	SuperQ-650M	QAE-550C	Q-600C AR	GigaCap	GigaCap		
					DEAE-650M	Q-650M		
チログロブリン (660 kDa)	3	3	6	26		71*1)		
ヒト免疫グロブリンG (155 kDa)	31	13	32	90	_	108*2)		
ウシ血清アルブミン (67 kDa)	25	145	29	108	165	172		

吸着溶離液;50 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.5) *1) 15 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.7) + 0.15 mol/L NaCl

*2) 15 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.7)

陽イオン交換体のたんぱく質吸着量(動的吸着量)

	吸着量(g/L)							
たんぱく質	TOYOPEARL SP-650C	TOYOPEARL SP-550C	TOYOPEARL GigaCap S-650M	TOYOPEARL GigaCap CM-650	Sタイプ アガロース (他社品)	Sタイプ ポリマー (他社品)		
ヒト免疫グロブリンG (155 kDa)	12	14	145	100	138	68		

吸着溶離液; 100 mmol/L 酢酸塩緩衝液 (pH 4.7)

陽イオン交換体のたんぱく質・ペプチドの吸着量(静的吸着量)

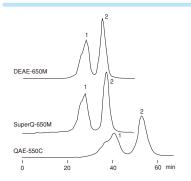
		吸着量(g/L)							
たんぱく質	TOYOPEARL CM-650M	TOYOPEARL SP-650M	TOYOPEARL SP-550C	TOYOPEARL MegaCap II SP-550EC	TOYOPEARL GigaCap CM-650M	TOYOPEARL GigaCap S-650M			
α-キモトリプシノーゲンA(25 kDa)	_	54	112	_	_	_			
リゾチーム (14.4 kDa)	43*2)	55	118	_	202*3)	209*3)			
インスリン (5.8 kDa) * 1)		47	120	130					

吸着溶離液;20 mmol/L りん酸塩緩衝液 (pH 6.0)

*1) 20 mmol/L りん酸塩緩衝液 (pH 3.0) *2) 10 mmol/L 酢酸塩緩衝液 (pH 5.0) *3) 動的吸着量;20 mmol/L りん酸塩緩衝液 (pH 7.0)、212 cm/hr

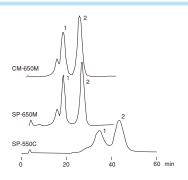
TOYOPEARL/TSKgel PW

アニオン交換体による たんぱく質分離の比較



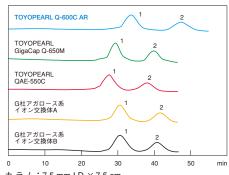
- カラム; TOYOPEARL DEAE-650M (22 mm I.D.×15 cm) TOYOPEARL SuperQ-650M (22 mm I.D. ×15 cm) TOYOPEARL QAE-550C (22 mm I.D.×15 cm)
- 溶離液;A:50 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.3) B:A+0.5 mol/L NaCl A→B (60 min、リニアグラジエント)
- 速;3.8 mL/min
- 出; UV (280 nm)
- 温 度;25℃
- 料;1. オブアルブミン 2. トリプシンインヒビター(各1 mg)
- ●DEAE-650MとSuperQ-650Mの吸着 力は、ほぼ同じです。
- ■QAE-550Cの吸着力は、650タイプよ りも約1.5倍強くなっています。
- ■SuperQ-650Mを用いる場合、溶離液の 平衝化時間は通常の約1.5倍必要です。

カチオン交換体による たんぱく質分離の比較



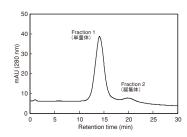
- カラム; TOYOPEARL CM-650M (16 mm I.D.×15 cm) TOYOPEARL SP-650M (16 mm I.D. × 15 cm) TOYOPEARL SP-550C (16 mm I.D. \times 15 cm)
- 溶 離 液;A:20 mmol/L りん酸塩緩衝液 (pH 6.0) B:A+0.5 mol/L NaCl $A \rightarrow B$ (60 min. U = T / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J = J / J =
- 流 速;2.0 mL/min
- 温 度:25℃
- 出; UV (280 nm)
- 試 料;1.リボヌクレアーゼA 2.チトクロムC
- DCM-650MとSP-650Mの方が SP-550Cよりシャープなピークとより 高い分離能を示します。
- ●たんぱく質の吸着は、SP-550Cの方が 強くなっています。
- ●CM-650MとSP-650Mは若干選択の 違いはありますが、ほぼ同じ吸着の強さ を示します。

各種イオン交換体の分離選択性の比較 (吸着保持力)



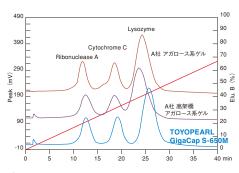
- カラム; 7.5 mm $I.D. \times 7.5$ cm
- 溶離液; A:50 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.5)
 - B:50 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.5) + 0.5 mol/L NaCl
 - A→B (60 min、リニアグラジエント)
- 速: 1.0 mL/min 出;UV (280 nm)
- 注入量:100 uL
- 料;1.オブアルブミン(2.0 g/L)
 - 2. トリプシンインヒビター (2.0 g/L)
- ■Q-600C ARは、吸着保持力が最も強くなっ ています。 試料中の塩濃度(NaCI) が0.1 mol/L程度あっても、BSAの動的吸着量が 60 g/L以上あります。

抗体凝集体の分離 TOYOPEARL NH2-750F



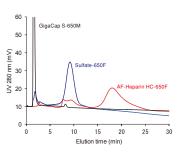
- カラム; TOYOPEARL NH2-750F (5 mm I.D. × 5 cm)
- 溶離液;A:20 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (0.8 Ha)
 - B: A + 1.0 mol/L NaCl
 - A→B(60 min、リニアグラジエント)
- 速;1.0 mL/min
- 出; UV (280 nm)
- 料;モノクローナル抗体(IgG1, 0.5 mg)
- ■NH2-750Fは、凝集体の分離が 良好です。

分離選択性の比較



- カラム; $7.5 \text{ mm I.D.} \times 7.5 \text{ cm}$
- 溶離液; A:20 mmol/L りん酸塩緩衝液 (pH 7.0)
 - B:20 mmol/L りん酸塩緩衝液 + 1.0 mol/L NaCl (pH 7.0)
- A→B (60 min、リニアグラジエント)
- 速;1.0 mL/min
- 出;UV (280 nm)
- 注入量;25μL
 - 料;リボヌクレアーゼ A (9.9 g/L) チトクロム C (3.5 g/L)
 - リゾチーム (6.6 g/L)
- ●GigaCap S-650Mは他社の充塡剤に比べ、 ピークがシャープです。

アンチトロンビンⅢの保持挙動 **TOYOPEARL Sulfate-650F**



- カラム; 7.5 mm $I.D.\times7.5$ cm
- 溶離液;A:20 mmol/L りん酸塩緩衝液(pH 7.5)
 - B: 20 mmol/L りん酸塩緩衝液
 - + 2.0 mol/L NaCl (pH 7.5)
 - A→B (30 min、リニアグラジエント)
- 谏:10 ml/min
- 出; UV (280 nm)
- 注入量:50 μL
- 料;アンチトロンビンⅢ(約3 g/L)
- ●Sulfate-650Fは、ヘパリンア フィニティ充塡剤に似た挙動を示 し、アンチトロビンⅢを保持します。

TOYOPEARL/TSKgel PW

市販リポキシダーゼの分離

0 30 60 90 min

カラム; TOYOPEARL SuperQ-650M

(16 mm I.D. × 15 cm)

溶離液;A:50 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.3) B:A+0.5 mol/L NaCl

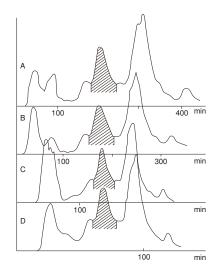
A→B (100 min、リニアグラジエント)

流 速;2.0 mL/min 検 出;UV(280 nm)

温 度;25℃

試 料;市販リポキシダーゼ(30 mg)

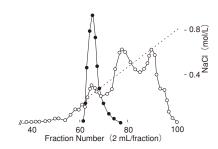
スケールアップ例



	カラムサイズ	試料注入量
Α	; 600 mm I.D. × 40 cm	40,000 mL
В	; 310 mm I.D. × 40 cm	10,000 mL
С	; 108 mm I.D. × 30 cm	1,000 mL
D	; 14 mm I.D. × 15 cm	7 mL
試	料;1%粗 β-ガラクトシターゼ	

- 分析カラムと同じ溶出パターンが大口 径カラムでも得られています。
- ◆大口径カラムへのスケールアップが容易です。

ウサギ筋アシッド α-グルコシダーゼの分離



カ ラ ム;TOYOPEARL CM-650M (15 mm l.D.× 13.5 cm) 溶 離 液;A: 10 mmol/L 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) B: A + 0.8 mol/L NaCl A→B リニアグラジエント

流 速; 2.0 mL/h

出;—— UV (280 nm)

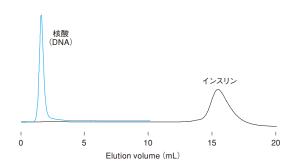
── 酵素活性

試料量; 25 mg たんぱく質/37 mL

H. Matsui, M. Sasaki E. Takemura, T. Kaneta and S. Chiba; Kinetics Studies on the Substrate Specificity and Active Site of Rabbit Muscle Acid α -Glucosidase. J. Biochem, 96,993 \sim 1004 (1984)

→ 大量 (37 mL) の試料でも、シャープ な分離が得られます。

インスリン精製(核酸との分離)



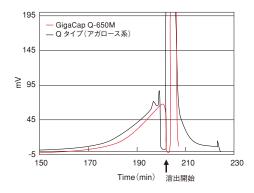
カラム;TOYOPEARL MegaCap ${\rm I\!I}$ SP-550EC (7.5 mm l.D.×7.5 cm)

溶離液;A:0.1 mol/L クエン酸塩緩衝液 (pH 3.0) B:0.1 mol/L クエン酸塩緩衝液 (pH 6.2)

10 分後に A) → B) にステップグラジエント

流 速;1.0 mL/min 検 出;UV(280 nm)

ウシ血清アルブミン溶出時のピーク幅の比較



カラム;TOYOPEARL GigaCap Q-650M (6 mm I.D.×4 cm)

溶離 液;吸着 buffer:50 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.5) 溶出 buffer:50 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 (pH 8.5) + 1.0 mol/L NaCl 吸着時:1.0 mL/min(線速度 212 cm/hr)

流 速;脱着時:2.0 mL/min

検 出;UV(280 nm)

試 料;ウシ血清アルブミン、1 g/L

吸着回収率;>95%

●GigaCap Q-650Mは、アガロース系充塡剤に比べ、 溶出時のピークが2倍以上シャープで、溶出量も3分 の1以下です。溶出時間を短縮でき、大型分取カラム での分離にも適しています。