

プラスミド DNA のクロマト分析、分離はこれで決まり！

TSKgel やトヨパール®でプラスミドベクター関連医薬品の開発を支援



テクニカルノート(TSKgel®, TOYOPEARL®) No. 15 にて、ウイルスベクターの分析、分離精製に分析用 TSKgel カラム及び分取用充填剤トヨパールが使用された論文及び技術資料を紹介しましたが、プラスミド DNA の分析、分離精製への応用例も多数報告されています。これまで報告されてきた論文や技術資料を以下に示します。

●プラスミドの DNA 分析、分離に使用されるクロマトグラフィー分離モード

分離モード	分離法	分離メカニズム	不純物の除去	精製工程	備考
サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)	アインクラティック	分子サイズに基づく差 (プラスミドDNAは大きく、ポイド付近に溶出)	遅れて溶出	初期分画、ポリッシング	試料負荷量が少なく、スケールアップは難しい
陰イオン交換クロマトグラフィー (AIEC)	吸着/グラジエント溶出	電荷に基づく差 (プラスミドDNAは高負電荷)	フロースルーまたはグラジエント (プラスミドDNAの異性体の分離)	キャプチャー 中間工程 ポリッシング	プラスミドDNAの異性体の分離は可能だが、簡単ではない
疎水クロマトグラフィー (HIC)	フロースルー 吸着/グラジエント溶出	疎水性の差	疎水性の差 (プラスミドDNAの異性体の分離)	キャプチャー 中間工程	AIECに比較すると吸着容量は低い

Ref.: S. Palmieri et al., BioProcess International, 2011, Lonza webinar, modified

●TSKgel 及びトヨパールを用いたプラスミド DNA の分析、分離例 (文献、技術資料)

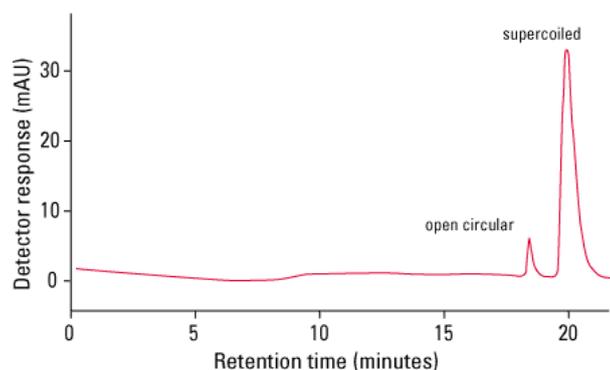
年	分離モード	カラム	ターゲット、キーワード	論文タイトル	ウェブサイト
2008	SEC, IEC, HIC	TSKgel G-DNA-PW, G6000PW _{XL} , DNA-NPR®, Butyl-NPR	プラスミドDNA	Characterization of Plasmid DNA Samples by Chromatographic Methods	Poster presentation, HPLC 2008, Baltimore, MD, USA
2007	IEC	TSKgel DNA-NPR	プラスミドDNA	Separation of topological forms of plasmid DNA by anion-exchange HPLC: Shifts in elution order of linear DNA	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S157002320702747
2005	SEC	TSKgel G-DNA-PW, G6000PW _{XL}	プラスミドDNA	High-speed chromatographic purification of plasmid DNA with a customized biporous hydrophobic adsorbent	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X0502044
2004	IEC	TSKgel DNA-NPR	プラスミドDNA	Effective and robust plasmid topology analysis and the subsequent characterization of the plasmid isoforms thereby observed	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC519125/

*TSKgel DNA-STATも TSKgel DNA-NPRと同様に使用できます。

年	分離モード	分取充填剤	ターゲット、キーワード	論文タイトル	ウェブサイト
2019	AFC	アルギニン固定化 AF-Epoxy-650M	スーパーコイルプラスミド DNA	Effect of Chromatographic Conditions on Supercoiled Plasmid DNA Stability and Bioactivity	https://www.researchgate.net/publication/337609716_Effect_of_Chromatographic_Conditions_on_Supercoiled_Plasmid_DNA_Stability_and_Bioactivity
2005	HIC	Butyl-650M	プラスミドDNA	Improved downstream process for the production of plasmid DNA for gene therapy	https://pdfs.semanticscholar.org/538d/c76266b278de8f5fba46f3d453b3681a53a.pdf

※ 弊社のカラムや充填剤に関する技術資料「セパレーションレポート」、「テクニカルインフォメーション」、「テクニカルノート」や子会社 (Tosoh Bioscience LLC/GmbH) の技術資料も多数ございます。技術資料を弊社ウェブサイトより入手できない場合は、担当営業員にご連絡ください。

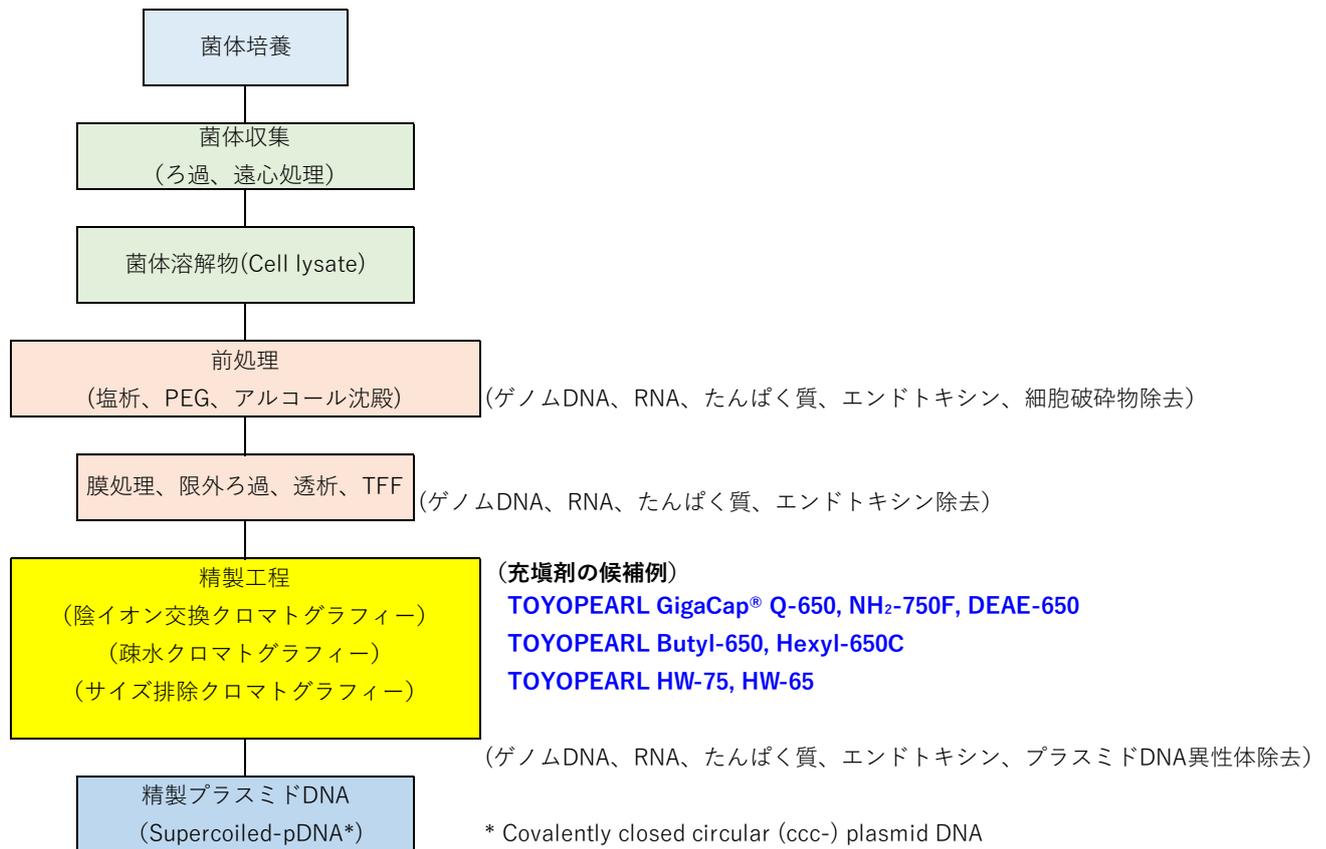
●TSKgel カラムを用いた陰イオン交換クロマトグラフィー (AIEC) によるプラスミド DNA の分離例



カラム : TSKgel DNA-NPR (2.5 μm, 4.6 mm I.D. × 7.5 cm)
 溶離液 : バッファー-A: 20 mmol/L Tris-HCl (pH 9.0)
 バッファー-B: 1 mol/L NaCl を含むバッファー-A
 バッファー-B: 50 % から 65 % へ 10 CV のリニアグラジエント
 流速 : 1 mL/min
 検出 : UV (260 nm)
 試料 : PUC19 プラスミド

プラスミド DNA の精製では、夾雑する宿主のゲノム DNA や RNA、たんぱく質などの不純物の他、プラスミド DNA の立体構造異性体である Open circular (oc-) 体, Linear 体も除去し、Supercoiled (closed circular: cc-) 体のみを精製する必要があります。

●プラスミドDNAの精製工程例



Ref.; S. Palmieri et al., BioProcess International, 2011, Lonza webinar, modified

以下のクロマトグラフィーの組み合わせがプラスミドDNAの精製工程に適用されています。

- **SEC** → マルチモードクロマトグラフィー (**Thiophilic Interaction Chromatography**) → **AIEC (A社)**
- **HIC** → **AIEC** → **SEC (B社)**
- **AIEC** → **HIC (C社)**
- **HIC** (フロースルー: FT) → **HIC (D社)**
- その他; 金属キレートアフィニティークロマトグラフィー (**IMAC**)
 ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー



※ "TSKgel", "TSKgel STAT", "NPR", "TOYOPEARL", "TOYOPEARL GigaCap", "トヨパール"は日本等における東ソー株式会社の登録商標です。

※ 掲載のデータ等はその数値を保証するものではありません。お客様の使用環境・条件・判断基準に合わせてご確認ください。

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部	☎(03) 5427-5180	〒105-8623	東京都港区芝3-8-2
大阪支店 バイオサイエンスG	☎(06) 6209-1948	〒541-0043	大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店 バイオサイエンスG	☎(052) 211-5730	〒460-0008	名古屋市中区栄1-2-7
福岡支店	☎(092) 781-0481	〒810-0001	福岡市中央区天神1-13-2
仙台支店	☎(022) 266-2341	〒980-0014	仙台市青葉区本町1-11-1
カスタマーサポートセンター	☎(0467) 76-5384	〒252-1123	神奈川県綾瀬市早川2743-1

バイオサイエンス事業部ホームページ <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/>
 HPLC Applications Database <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/applications-database-jp>
 お問い合わせE-mail hlc@tosoh.co.jp