

※以下の名称は東ソー株式会社の商標です。

HLC, TSKgel, TSKgel SuperMultipore, TSKgel STAT
BioAssist, Enantio, PStQuick,
エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen,
TOYOPEARL GigaCap, トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap,
トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK, FFLC, マイシヨリディスク

※外観、仕様は予告なく変更することがあります。

※掲載写真と説明文、構成ユニットは異なる場合があります。

※製品の多くは毒性・安全性について検査されていません。

特に警告・注意がなくても、無害・無毒であると保証されている訳ではありません。

※当社製品を使用して得られた分離精製物または精製溶液を、製品及び中間体として使用する場合は、十分にその安全性の確認を行ってご使用ください。

※記載されたデータは当社が取得した参考データで、保証するデータではありません。

お客様の使用環境・条件・判断基準に合わせてご確認もしくはデータの取得をお願い致します。

※掲載の価格は2017年8月1日現在の価格です。

※表示価格には消費税が含まれておりません。別途申し受けます。

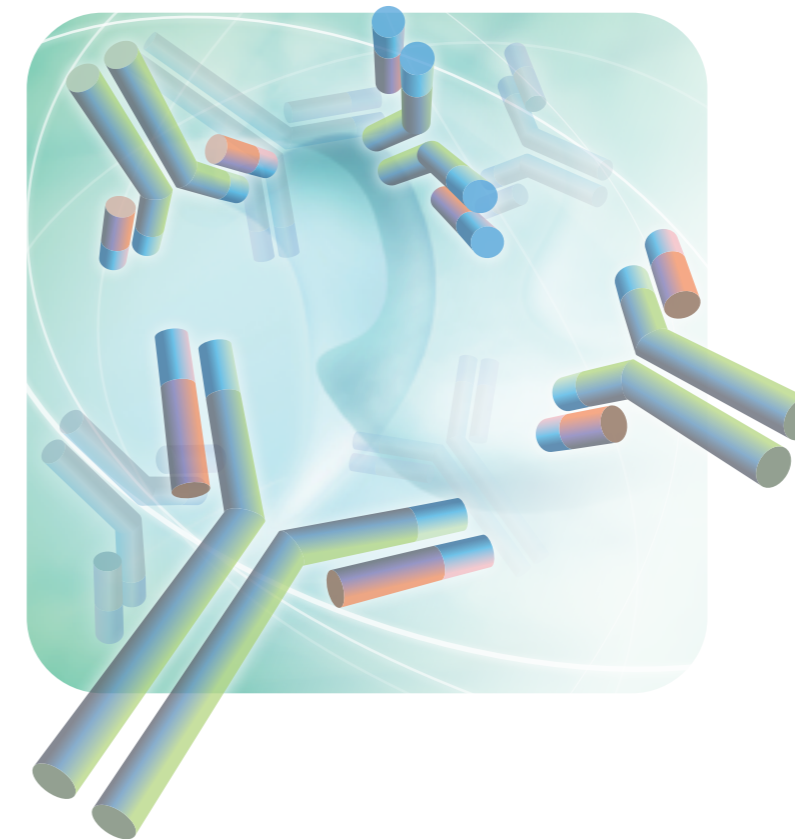
※納期が記載されていない商品の納期は原則として受注後1週間以内です。



TOSOH

抗体医薬品のクロマトグラフィーによる 分離精製及び品質管理

— TOYOPEARL®、TSKgel® シリーズ —



TOSOH

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 FAX (03) 5427-5220 〒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 FAX (06) 6209-1965 〒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 FAX (052) 222-8623 〒460-0008 名古屋市中区栄1-2-7

福岡支店

☎ (092) 781-0481 FAX (092) 751-7015 〒810-0001 福岡市中央区天神1-13-2

仙台支店

☎ (022) 266-2341 FAX (022) 267-5745 〒980-0014 仙台市青葉区本町1-11-1

山口営業所

☎ (0834) 63-9888 FAX (0834) 63-6627 〒746-0015 山口県周南市清水1-6-1

カスタマーサポートセンター

☎ (0467) 76-5384 FAX (0467) 79-2550 〒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

<http://www.separations.asia.tosohbioscience.com>

HPLC Applications Database

<http://hplcapplications.tosohbioscience.com/applications-database>

お問い合わせ E-mail

●製品全般、カタログに関するお問い合わせ hlc@tosoh.co.jp
●カラム、分離に関するお問い合わせ tskgel@tosoh.co.jp
●装置の技術相談に関するお問い合わせ csc@tosoh.co.jp

■海外でのお求めについて

TSKgel, TOYOPEARLは、海外でもご購入できます。

海外でのお問い合わせは下記までお願いいたします。

- Tosoh Bioscience LLC
Address : 3604 Horizon Drive Suite 100, King of Prussia, PA 19406, USA
Telephone : +1 800 366 4875 Fax : +1 610 272 3028
- Tosoh Bioscience GmbH
Address : Im Leuschnerpark 4, 64347 Griesheim, Germany
Telephone : +49 6155 7043700 Fax : +49 6155 8357900
- Tosoh Bioscience Shanghai Co., Ltd.
Address : Room 1001, Innov Tower, Block A, 1801 Hong Mei Road,
Xu Hui District, Shanghai 200233, China
Telephone : +86 21 3461 0856 Fax : +86 21 3461 0858
- Tosoh Asia Pte., Ltd.
Address : 63 Market Street #10-03 Singapore 048942
Telephone : +65 6226 5106 Fax : +65 6226 5215

抗体のプロセスクロマトグラフィー

モノクローナル抗体はバイオ医薬品や診断検査試薬として需要が高く、大量精製、高純度精製が必須となっています。そのためダウンストリームでのクロマトグラフィーによる精製が、ますます重要になっています。

表1に抗体精製に使われる各種クロマトグラフィー分離モードの特徴を示します。プロテインAアフィニティークロマトグラフィーは、抗体の精製純度が非常に高く、初期精製に最もよく使用されています。イオン交換クロマトグラフィー (IEC) は、高吸着タイプが普及してきました。疎水クロマトグラフィー (HIC) は、抗体の凝集体や漏出プロテインAなどの不純物除去に優れています。ミックスモードクロマトグラフィー (MXC) は、高い塩濃度の溶離液で吸着が可能です。

図1は、抗体精製プラットフォームの一例です。プロテインAステップと陽イオン交換クロマトグラフィー、陰イオン交換クロマトグラフィーを組み合わせることにより、不純物 (ホストセルたんぱく質; HCP、核酸、抗体凝集体、漏出プロテインAリガンド) を除去し、純度の高い抗体を回収できます。

表1. 各種クロマトグラフィー分離モードの特徴

	抗体吸着量	抗体精製純度	充填剤の洗浄	充填剤のコスト
アフィニティー	++	+++	++	+
イオン交換	+++	++	+++	+++
疎水	++	++	+++	++
ミックスモード	+	++	++	++

+++ ; 特に優れている ++ ; 優れている + ; 改善が望まれる
*陰イオン交換体はフロースルーモードで不純物を吸着・除去する

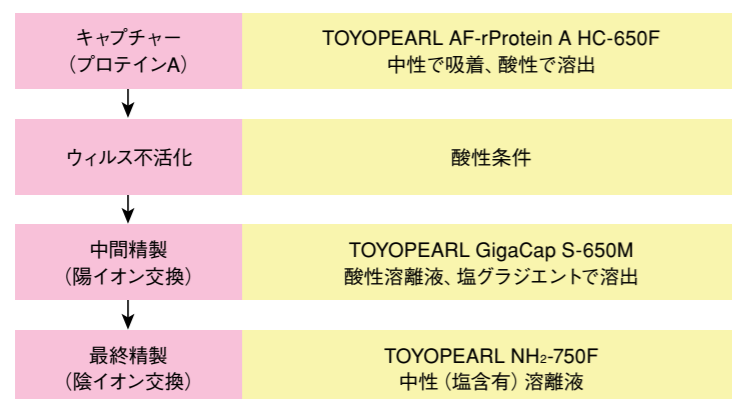


図1. 抗体精製プラットフォーム例

表2. 主な抗体精製用のトヨパール製品

分離モード	主な製品名	抗体吸着量	主な特徴
AFC	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	≥68 g/L	高吸着、耐アルカリ
	TOYOPEARL AF-rProtein L-650F	≥64 g/L	フラグメント抗体への適用
IEC	TOYOPEARL GigaCap S-650M	136-176 g/L	高吸着型
	TOYOPEARL Sulfate-650F	≥114 g/L	塩耐性、凝集体分離に優れる
	TOYOPEARL GigaCap Q-650M	≥162 g/L (*1)	フロースルーモード、高吸着型
	TOYOPEARL NH ₂ -750F	≥70 g/L	フロースルーモード、塩耐性、凝集体分離に優れる
MXC	TOYOPEARL Mx-Trp-650M	≥75 g/L	ミックスモード、塩耐性、凝集体分離に優れる
HIC	TOYOPEARL Phenyl-600M	45-65 g/L (*2)	高吸着、高回収率
	TOYOPEARL PPG-600M	20-35 g/L	疎水性の高い抗体、ADCへの適用
	TOYOPEARL Hexyl-650C	30-50 g/L (*2)	低塩濃度フロースルーモード

(*1)BSA、(*2)リゾチーム

プロテインA、プロテインL担体

初期精製工程では、大量の培養上清を迅速に精製することが要求されるため、高吸着量で、高速処理が可能なプロテインA担体が広く使用されています。

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650Fは、新規のアルカリ耐久性のある遺伝子組み換えプロテインAを、抗体精製に最適化したベース基材に多点結合で固定化した担体で、高い吸着量を有しています (図2)。高濃度 (10g/L) の抗体試料液でも、汎用流速で非常に高い吸着量を示します (図3)。また、リガンドの漏出も少なく (図4)、HCPの除去効率にも優れています (図5)。さらにアルカリ洗浄による繰り返しCIPでも、吸着量の低下が少ない優れたプロテインA担体です。

一方、プロテインL担体は、抗体κ軽鎖に親和性を有しています。プロテインA担体では適用できないFab、scFv等、Fc領域を有さないフラグメント抗体のアフィニティー精製が可能となります。

TOYOPEARL AF-rProtein L-650Fは、従来のプロテインLの弱点であった吸着量、アルカリ耐久性を大きく改善したもので、実用的な生産プロセスレベルへの適用が可能です (図6、7)。また、フラグメント抗体に限らず、IgM、IgAといった抗体クラスへの親和性もあり、プロテインAを補完する特性を有しています。

イオン交換担体

プロテインAに続く中間精製、最終精製工程には、イオン交換モードが広く使用されており、その吸着量は、官能基の導入技術の進歩により、100-170g/Lの高吸着タイプが主流になっています。抗体の等電点は、一般に中性から弱塩基性であるため、抗体は陽イオン交換体で吸着分離されます。

TOYOPEARL GigaCap S-650Mは、担体表面にカチオン性グラフトポリマーを導入しており、高い抗体吸着量を示します。さらに、溶出時のピークもシャープであることから、試料を高濃度で溶出させることが可能です (図8)。

TOYOPEARL Sulfate-650Fは高い塩濃度 (0.15 mol/L程度のNaCl) を含む試料でもたんぱく質を吸着できる塩耐性を有するため、前工程の溶出液を脱塩等の処理なしで、負荷することもできます。

陰イオン交換体は、抗体をフロースルーモードで溶出させ、ホストセルたんぱく質、核酸、エンドトキシン、抗体凝集体などを吸着除去します。TOYOPEARL NH₂-750Fは、ユニークな分離特性を有し、優れた凝集体除去性能を示します (図9)。また、TOYOPEARL Sulfate-650Fと同様に塩耐性の特性も有しています。

ミックスモード担体

充填剤官能基が、イオン性及び疎水性の両方の性質を有する担体です。ミックスモード担体は、試料中の塩濃度が高い場合 (0.15 mol/L NaCl程度) でも、抗体を十分に吸着します。TOYOPEARL MX-Trp-650Mは官能基として、トリプトファンを有し、抗体に対して高い吸着量 (70 g/L以上) を示します。

疎水クロマトグラフィー担体

疎水クロマトグラフィーは、ホストセルたんぱく質、核酸、プロテインA漏出物などの不純物ほか、抗体の構造異性体、凝集体なども分離が可能です。

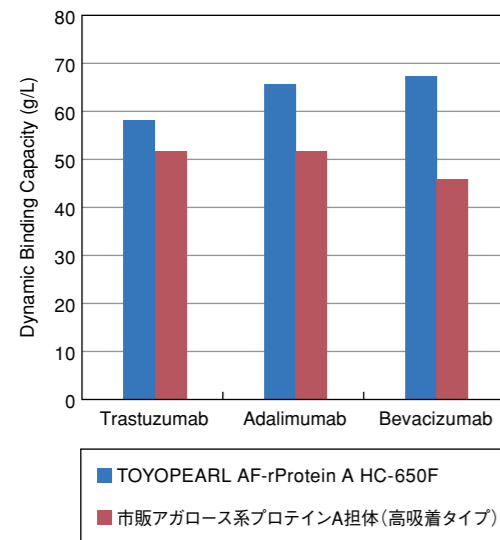
TOYOPEARL 600シリーズは、充填剤の細孔径を最適化することで、抗体吸着量を向上させた第二世代の疎水クロマトグラフィー担体です。抗体の動的吸着量は、20-45g/Lですが、疎水クロマトグラフィー担体は、抗体の疎水性と、回収率や分離能も含めて選択する必要があります。一般的な抗体分離には、フェニル基またはブチル基を持つ担体 (TOYOPEARL Phenyl-650M, Phenyl-600M, Butyl-650M, Butyl-600M) が適しており、疎水性の高い抗体には、やや疎水性の弱い担体 TOYOPEARL PPG-600Mが適しています。また、混合塩溶液 (Dual salts) の利用で吸着量を向上させたり、TOYOPEARL Hexyl-650Cを用いたフロースルーモードへの応用や、精製抗体と薬物を結合した Antibody-Drug-Conjugate (ADC) の分離精製に、TOYOPEARL Phenyl-650, Butyl-650M, PPG-600, Ether-650Mなどが使用されています。

プロセス開発・スクリーニング用カラム ToyoScreen®、MiniChrom、RoboColumn®

ToyoScreenは、各種TOYOPEARLを充填した簡易型のスクリーニング用カラムです。1 mL、5 mLのカートリッジカラムが用意されており、精製プロセス開発のための充填剤スクリーニングや分離条件の初期検討が、汎用LCシステム等に接続して容易に行えます。

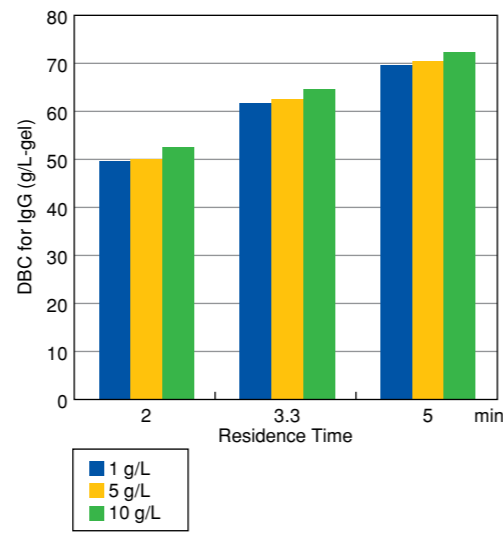
MiniChromは、カラムサイズ8 mm I.D. × 10 cm (容量5 mL) で、ToyoScreenカラムでのスクリーニング後、分離条件の最適化や小スケールでの分取精製用に設計されたカラムです。

RoboColumnは、Tecan社 Freedom EVO®のような全自動分注システムとの組み合わせで使用できるミニカラムで、ハイスループットでの充填剤スクリーニングや条件検討が可能です。



カラムサイズ：10 mm I.D. × 50 mm
 試料：各抗体 1 g/L
 in 50 mM HEPES 緩衝液 + 150 mM NaCl (pH 7.0)
 滞留時間：4分 (吸着量は10% ブレークスルー測定値による)

図2. TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650Fの抗体動的吸着量(サンプル: 抗体医薬品バイオシミラー)



カラム：TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F (5 mm I.D. × 5 cm)
 試料：抗体溶液：1、5、10 g/L in 0.02 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 7.4) + 0.15 mol/L NaCl
 滞留時間：2、3.3、5分
 検出：UV (280 nm)

図3. TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650Fにおける抗体濃度(力価)と動的吸着量

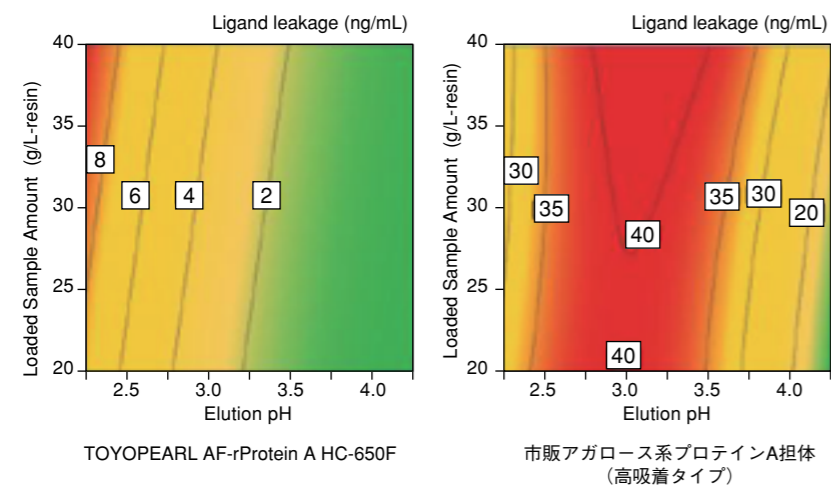


図4. プロテインAリガンド漏れ出し比較

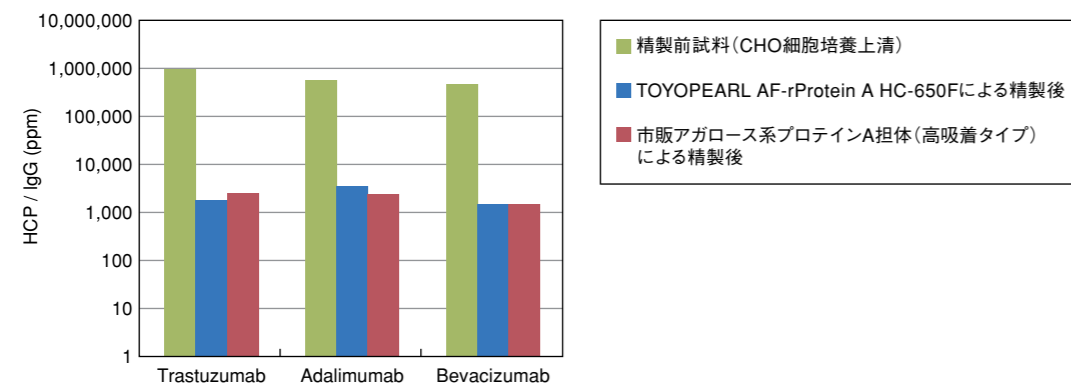
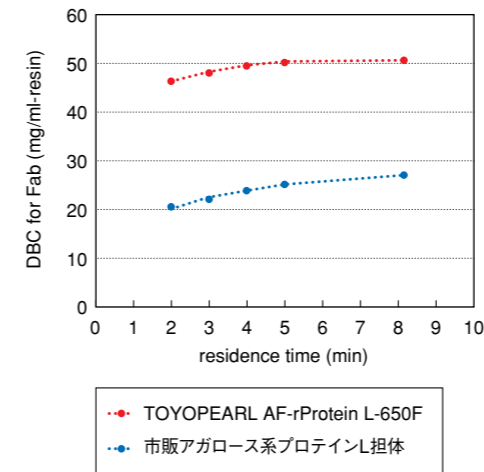
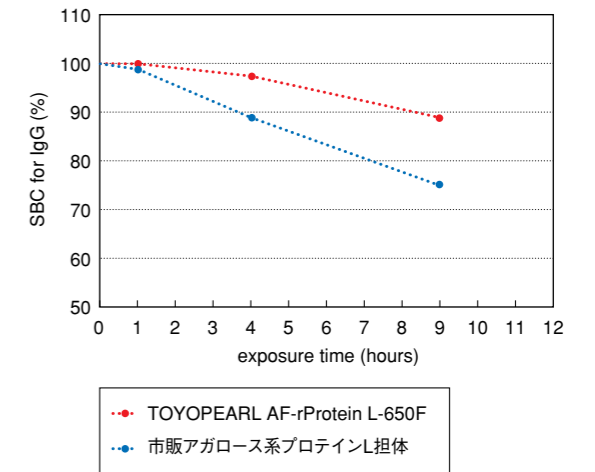


図5. TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650FによるHCP除去効果の比較(サンプル: 抗体医薬品バイオシミラー)



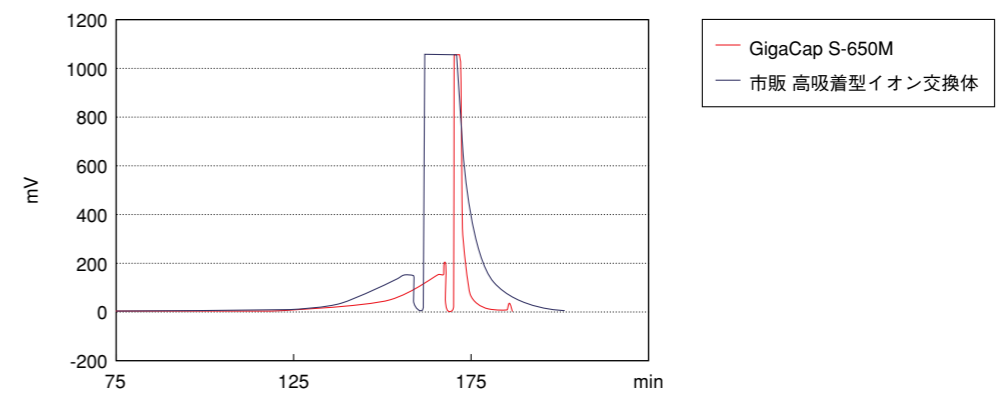
カラムサイズ：4.6 mm I.D. × 50 mm
 試料：ヒト抗体Fab 2g/L
 in 0.1 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5)
 (吸着量は10% ブレークスルー測定値による)

図6. TOYOPEARL AF-rProtein L-650FのFab動的吸着量



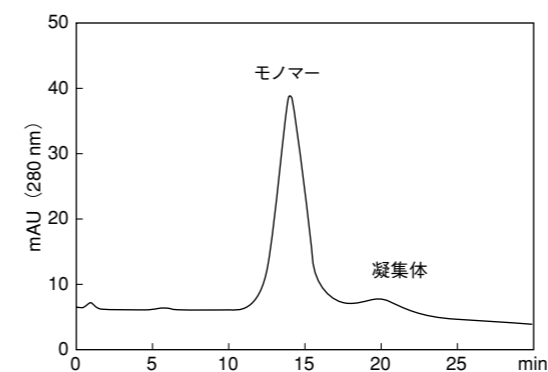
0.1 mol/L NaOHに浸漬した場合の抗体吸着量変化の比較

図7. TOYOPEARL AF-rProtein L-650Fの耐アルカリ性



カラムサイズ：6 mm I.D. × 4 cm
 試料：ヒト抗体 (1 g/L)、0.1 mol/L 酢酸塩緩衝液 (pH 4.7)
 溶出：0.1 mol/L 酢酸塩緩衝液 (pH 4.7) + 1.0 mol/L NaCl
 流速：試料負荷時 1.0 mL/min、溶出時 2.0 mL/min

図8. 抗体溶出時の溶出ピーク幅(溶出容量)



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 (pH 8.0)
 溶離液B：20 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液 + 1.0 mol/L NaCl (pH 8.0)
 グラジエント：溶離液A→B (リニア、60分)
 流速：1.0 mL/min
 検出：UV (280 nm)
 試料：モノクローナル抗体 (IgG1、0.5 mg)

図9. モノクローナル抗体の凝集体の分離

● 製品一覧(プロセスクロマトグラフィー)

● プロテインA、プロテインL担体

一覧表			
品番	品名	容量	価格(円)
0023425		10 mL	77,000
0023426	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	25 mL	165,000
0023427		100 mL	330,000
0022803		10 mL	77,000
0022804	TOYOPEARL AF-rProtein A-650F	25 mL	165,000
0022805		100 mL	330,000
0023486		10 mL	77,000
0023487	TOYOPEARL AF-rProtein L-650F	25 mL	165,000
0023488		100 mL	330,000

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)：30~60μm
 保存温度：2~8℃

● イオン交換担体

陰イオン交換担体一覧表

品名	容量	S		M		C	
		品番	価格(円)	品番	価格(円)	品番	価格(円)
TOYOPEARL GigaCap Q-650	250 mL	0022882	68,000	0021855*1)	44,000	—	—
TOYOPEARL GigaCap DEAE-650	250 mL	—	—	0022866*1)	44,000	—	—
TOYOPEARL SuperQ-650	250 mL	0017223	51,000	0017227	33,000	0017231	33,000
TOYOPEARL DEAE-650	250 mL	0007472	45,000	0007473	22,000	0007988	22,000
TOYOPEARL Q-600 AR	250 mL	—	—	—	—	0021986	44,000
TOYOPEARL QAE-550	250 mL	—	—	—	—	0014026	33,000
TOYOPEARL NH ₂ -750	250 mL	—	—	0023439*2)	44,000	—	—

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; 20~50μm) / M (Medium; 40~90μm) / C (Coarse; 50~150μm)
 *1) 50~100μm *2) F (Fine; 30~60μm)

陽イオン交換担体一覧表

品名	容量	S		M		C	
		品番	価格(円)	品番	価格(円)	品番	価格(円)
TOYOPEARL GigaCap S-650	250 mL	0022876	68,000	0021834*3)	44,000	—	—
TOYOPEARL GigaCap CM-650	250 mL	—	—	0021947*3)	44,000	—	—
TOYOPEARL SP-650	250 mL	0008437	45,000	0007997	22,000	0007994	22,000
TOYOPEARL CM-650	250 mL	0007474	45,000	0007475	22,000	0007991	22,000
TOYOPEARL SP-550	250 mL	—	—	—	—	0014028	33,000
TOYOPEARL MegaCap II SP-550	250 mL	—	—	—	—	0021805*4)	33,000
TOYOPEARL Sulfate-650	250 mL	—	—	0023468*5)	53,000	—	—

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。(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。
 粒子径(膨潤時)：S (Super Fine; 20~50μm) / M (Medium; 40~90μm) / C (Coarse; 50~150μm)
 *3) 50~100μm *4) EC (Extra Coarse; 100~300μm) *5) F (Fine; 30~60μm)

● ミックスモード担体

一覧表

品番	品名	容量	価格(円)
0022817	TOYOPEARL MX-Trp-650M	25 mL	30,000
0022818		100 mL	72,000

● 疎水クロマトグラフィー担体

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; 20~50μm) / M (Medium; 40~90μm) / C (Coarse; 50~150μm)

● トヨパールスクリーニング用充填カラム (ToyoScreen)

品名	1 mL × 6		5 mL × 6	
	品番	価格 (円)	品番	価格 (円)
ToyoScreen GigaCap Q-650M	0021859	12,000	0021860	24,000
ToyoScreen GigaCap DEAE-650M	0022872	12,000	0022873	24,000
ToyoScreen DEAE-650M	0021360	12,000	0021361	24,000
ToyoScreen SuperQ-650M	0021362	12,000	0021363	24,000
ToyoScreen QAE-550C	0021364	12,000	0021365	24,000
ToyoScreen GigaCap S-650M	0021868	12,000	0021869	24,000
ToyoScreen GigaCap CM-650M	0021951	12,000	0021952	24,000
ToyoScreen MegaCap II SP-550EC	0021870	12,000	0021871	24,000
ToyoScreen CM-650M	0021366	12,000	0021367	24,000
ToyoScreen SP-650M	0021368	12,000	0021369	24,000
ToyoScreen SP-550C	0021370	12,000	0021371	24,000
ToyoScreen Q-600C AR	0021992	12,000	0021993	24,000
ToyoScreen NH ₂ -750F	0023443	12,000	0023444	24,000
ToyoScreen Sulfate-650F	0023472	12,000	0023473	24,000
ToyoScreen IEC	0021396 ^{*1)}	12,000	0021397 ^{*1)}	24,000
ToyoScreen A-IEC	0021392 ^{*2)}	12,000	0021393 ^{*2)}	24,000
ToyoScreen C-IEC	0021394 ^{*3)}	12,000	0021395 ^{*3)}	24,000

*1) 6種 (GigaCap Q-650M, GigaCap S-650M, GigaCap CM-650M, SuperQ-650M, Q-600C AR, SP-550C) 各1本のセット
 *2) 5種 (GigaCap Q-650M, DEAE-650M, SuperQ-650M, Q-600C AR, QAE-550C) 各1本のセット
 *3) 5種 (GigaCap S-650M, GigaCap CM-650M, CM-650M, SP-650M, SP-550C) 各1本のセット

疎水クロマトグラフィー担体

品名	1 mL × 6		5 mL × 6	
	品番	価格 (円)	品番	価格 (円)
ToyoScreen Ether-650M	0021372	12,000	0021373	24,000
ToyoScreen Phenyl-650M	0021374	12,000	0021375	24,000
ToyoScreen Butyl-650M	0021376	12,000	0021377	24,000
ToyoScreen Hexyl-650C	0021378	12,000	0021379	24,000
ToyoScreen Phenyl-600M	0021892	12,000	0021893	24,000
ToyoScreen PPG-600M	0021380	12,000	0021381	24,000
ToyoScreen Butyl-600M	0021494	12,000	0021495	24,000
ToyoScreen SuperButyl-550C	0021382	12,000	0021383	24,000
ToyoScreen HIC	0021398 ^{*4)}	12,000	0021399 ^{*4)}	24,000

*4) 6種 (Phenyl-600M, PPG-600M, Phenyl-650M, Hexyl-650C, Butyl-600M, Butyl-650M) 各1本のセット

ミックスモード担体

品名	1 mL × 6		5 mL × 6	
	品番	価格 (円)	品番	価格 (円)
ToyoScreen MX-Trp-650M	0022824	30,000	0022825	70,000

プロテインA、プロテインL担体

品名	1 mL × 5		5 mL × 1		5 mL × 5	
	品番	価格 (円)	品番	価格 (円)	品番	価格 (円)
ToyoScreen AF-rProtein A HC-650F ^{*5)}	0023430	67,000	0023431	60,000	0023432	195,000
ToyoScreen AF-rProtein A-650F ^{*5)}	0022809	67,000	0022810	60,000	0022811	195,000
ToyoScreen AF-rProtein L-650F ^{*5)}	0023494	67,000	0023495	60,000	0023496	195,000

*5) 保存温度: 2 ~ 8℃

ホルダ&コネクタ

品番	品名	内容	価格 (円)
0021400	ToyoScreen Holder ^{*6)}	ボディ、エンド(入口側1 mL用)、エンド(入口側5 mL用)、 エンド(出口側)各1個、エンドプラグ2個	5,000
0020028	T-Fユニオン (M6 - 10-32)	FPLC [®] 用コネクタ	2,100

*6) ToyoScreen をご使用の際には、品番 0021400 ToyoScreen Holder が必ず必要になります。

ToyoScreen を FPLC に接続して使用する場合は、T-F ユニオン (品番 0020028) をご使用ください。
 FPLC は、GE ヘルスケア・ジャパン株式会社の登録商標です。

MiniChrom

品番	品名	カラムサイズ	カラム容量	粒子径	価格 (円)
0045101	TOYOPEARL GigaCap S-650M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	50 ~ 100 μm	22,000
0045102	TOYOPEARL GigaCap S-650S	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	20 ~ 50 μm	22,000
0045103	TOYOPEARL GigaCap CM-650M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	50 ~ 100 μm	22,000
0045104	TOYOPEARL GigaCap Q-650M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	50 ~ 100 μm	22,000
0045105	TOYOPEARL GigaCap Q-650S	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	20 ~ 50 μm	22,000
0045106	TOYOPEARL GigaCap DEAE-650M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	50 ~ 100 μm	22,000
0045107	TSKgel SuperQ-5PW (20)	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	15 ~ 25 μm	25,000
0045108	TOYOPEARL NH ₂ -750F	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	30 ~ 60 μm	25,000
0045117	TOYOPEARL Sulfate-650F	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	30 ~ 60 μm	25,000
0045121	TOYOPEARL Phenyl-650M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	40 ~ 90 μm	25,000
0045122	TOYOPEARL Phenyl-650S	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	20 ~ 50 μm	25,000
0045123	TOYOPEARL Phenyl-600M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	40 ~ 90 μm	25,000
0045124	TOYOPEARL PPG-600M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	40 ~ 90 μm	25,000
0045125	TOYOPEARL Butyl-650M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	40 ~ 90 μm	25,000
0045126	TOYOPEARL Butyl-650S	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	20 ~ 50 μm	25,000
0045127	TOYOPEARL Butyl-600M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	40 ~ 90 μm	25,000
0045151	TOYOPEARL MX-Trp-650M	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	50 ~ 100 μm	25,000
0045161	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F ^{*7)}	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	30 ~ 60 μm	120,000
0045162	TOYOPEARL AF-rProtein L-650F ^{*7)}	8 mm.I.D. × 10 cm	5 mL	30 ~ 60 μm	120,000

*7) 保存温度: 2 ~ 8℃

納期: 受注後3週間

RoboColumn

品番	品名	容量	粒子径	価格 (円)
0045001	TOYOPEARL GigaCap S-650M	200 μL × 8	50 ~ 100 μm	20,000
0045002	TOYOPEARL GigaCap S-650M	600 μL × 8	50 ~ 100 μm	24,000
0045003	TOYOPEARL GigaCap Q-650M	200 μL × 8	50 ~ 100 μm	20,000
0045004	TOYOPEARL GigaCap Q-650M	600 μL × 8	50 ~ 100 μm	24,000
0045005	TOYOPEARL GigaCap CM-650M	200 μL × 8	50 ~ 100 μm	20,000
0045006	TOYOPEARL GigaCap CM-650M	600 μL × 8	50 ~ 100 μm	24,000
0045007	TOYOPEARL GigaCap DEAE-650M	200 μL × 8	50 ~ 100 μm	20,000
0045008	TOYOPEARL GigaCap DEAE-650M	600 μL × 8	50 ~ 100 μm	24,000
0045011	TOYOPEARL Q-600C AR	200 μL × 8	50 ~ 150 μm	20,000
0045012	TOYOPEARL Q-600C AR	600 μL × 8	50 ~ 150 μm	24,000
0045021	TOYOPEARL NH ₂ -750F	200 μL × 8	30 ~ 60 μm	20,000
0045022	TOYOPEARL NH ₂ -750F	600 μL × 8	30 ~ 60 μm	24,000
0045027	TOYOPEARL Sulfate-650F	200 μL × 8	30 ~ 60 μm	20,000
0045028	TOYOPEARL Sulfate-650F	600 μL × 8	30 ~ 60 μm	24,000
0045031	TOYOPEARL Phenyl-600M	200 μL × 8	40 ~ 90 μm	22,000
0045032	TOYOPEARL Phenyl-600M	600 μL × 8	40 ~ 90 μm	29,000
0045033	TOYOPEARL Butyl-600M	200 μL × 8	40 ~ 90 μm	22,000
0045034	TOYOPEARL Butyl-600M	600 μL × 8	40 ~ 90 μm	29,000
0045035	TOYOPEARL PPG-600M	200 μL × 8	40 ~ 90 μm	22,000
0045036	TOYOPEARL PPG-600M	600 μL × 8	40 ~ 90 μm	29,000
0045037	TOYOPEARL Phenyl-650M	200 μL × 8	40 ~ 90 μm	22,000
0045038	TOYOPEARL Phenyl-650M	600 μL × 8	40 ~ 90 μm	29,000
0045051	TOYOPEARL MX-Trp-650M	200 μL × 8	50 ~ 100 μm	22,000
0045052	TOYOPEARL MX-Trp-650M	600 μL × 8	50 ~ 100 μm	29,000
0045061	TOYOPEARL AF-rProtein A-650F ^{*8)}	200 μL × 8	30 ~ 60 μm	40,000
0045062	TOYOPEARL AF-rProtein A-650F ^{*8)}	600 μL × 8	30 ~ 60 μm	100,000
0045063	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F ^{*8)}	200 μL × 8	30 ~ 60 μm	40,000
0045064	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F ^{*8)}	600 μL × 8	30 ~ 60 μm	100,000
0045065	TOYOPEARL AF-rProtein L-650F ^{*8)}	200 μL × 8	30 ~ 60 μm	40,000
0045066	TOYOPEARL AF-rProtein L-650F ^{*8)}	600 μL × 8	30 ~ 60 μm	100,000
0045071	TOYOPEARL HW-40F	200 μL × 8	30 ~ 60 μm	20,000
0045072	TOYOPEARL HW-40F	600 μL × 8	30 ~ 60 μm	24,000

*8) 保存温度: 2 ~ 8℃

納期: 受注後3週間

初めて RoboColumn を Tecan 社 Freedom EVO で使用する場合は、別途、市販の Array Plate が必要となります。
 RoboColumn は Atoll GmbH 社の登録商標です。 Freedom EVO は Tecan Group Ltd. の登録商標です。

※ 個別グレードは、総合カタログやトヨパールカタログ・リーフレットを参照ください。

抗体医薬品のHPLCによる分析

抗体は複雑な構造を持つ糖たんぱく質で天然型でも均一ではありません。さらに製造工程(培養、精製)でも不均一性が生じるため、品質管理ではこの不均一性の確認(不均一性のパターンが常に一定であること)が非常に重要です。不均一性にはたんぱく質部分の二量体、多量体、脱アミド体、末端アミノ酸変異などの他、糖鎖部分のグリコフォームがありますが、いずれもHPLCを用いた分析が多用されています。

サイズ排除クロマトグラフィー

抗体(IgG1)の分子量は約15万であり、二量体、凝集体(三量体以上の多量体など)、及び抗体分解物などを分子サイズに基づいて分離・定量するために、TSKgel G3000SW_{XL}やTSKgel SuperSW3000が広く利用されています。二量体、単量体、及び抗体分解物を汎用のHPLCで同時に分離するには、分離能が高いTSKgel SuperSW mAb HRが適しています(図1)。一方、検出器セル容量や配管容量を小さくしたHPLCやUHPLCを用いて抗体を分離する場合は、粒子径2 µmの充填剤を4.6 mm I.D. × 30 cmのカラムに充填したTSKgel UP-SW3000が高い分離能を示します。図2に抗体をTSKgel G3000SW_{XL}(2本)及びTSKgel UP-SW3000(1本)で分離したクロマトグラムを示します。薬物候補のスクリーニングなど短時間測定が必要な場合はTSKgel UP-SW3000の15 cmカラムが適しており、5分以内での分離が可能で(図3)、粒子径1.7 µmの市販SECカラム(下段クロマトグラム)より優れた分離が得られています。凝集体の分析は抗体医薬品の安全性を確保する上で非常に重要です。既存のSECカラムでは三量体以上の凝集体を分離することは困難でしたが、TSKgel UltraSW Aggregateは排除限界分子量がTSKgel G3000SW_{XL}に比べ高く、凝集体の分離に適したカラムです。たんぱく質などの高分子物質をSECで測定する場合、流速を下げることで分離が向上することが一般に知られています。TSKgel UltraSW Aggregateを用いて低流速(0.2 mL/min)で測定することにより、モノクローナル抗体の凝集体を五量体まで分離することが可能でした(図4)。次世代抗体医薬品の一つとして抗体薬物複合体(Antibody-drug conjugate; ADC)の開発が盛んになっていますが、ADCは抗体に疎水性の高い低分子薬物が複数結合しているため、リン酸塩緩衝液などの一般的な移動相では回収率の低下、ピークのテーリングが発生することがあります。その場合、移動相に有機溶媒やアルギニンを追加することにより改善が可能です(図5)。

イオン交換クロマトグラフィー

抗体精製品は、分子量的にはほぼ同一でも、荷電変異体(チャージアイソフォーム: 脱アミド体、末端アミノ酸変異)や、糖鎖構造の異なる分子種(グリコフォーム)から成っており、これら荷電状態の異なる成分を分離するためにはイオ

ン交換クロマトグラフィー(IEC)を用います。

IECでは、TSKgel CM-STATやTSKgel SP-STATを用いることで、抗体医薬品の変異体等が高分離能、短時間で分析できます(図6)。ヒトIgGのH鎖C末端リジン(Lys)残基は酵素(カルボキシペプチダーゼ)により容易に切断されるため、結果としてLys残基数の異なる荷電変異体が生じます。この荷電変異体は陽イオン交換クロマトグラフィー(CIEC)により分析が可能です(図7)。インタクト抗体をTSKgel CM-STATを用いて分離した結果では、三つのメインピークが溶出しています(図7下段クロマトグラム)。この抗体を酵素処理し測定した結果(図7上段クロマトグラム)、メインピークが一つとなることから、元の三つのメインピークはそれぞれLys残基数の異なる荷電変異体であることがわかります。

アスパラギン(Asn)残基の脱アミド化とアスパラギン酸(Asp)残基の異性化は頻繁に生じます。モノクローナル抗体のL鎖Asn30の脱アミド化体(Asp30)、及びH鎖Asp102の異性化体(isoAsp102)をCIECで分離した例を図8及び図9に示します。インタクト抗体をCIECで測定した結果、Asp30及びisoAsp102の分離は不十分でしたが(図8)、各ピークを分取しパepsin消化し得られたFc、及びFabをCIECで測定した結果、Asp30、及びisoAsp102が良好に分離されました(図9)。最近では二重特異性抗体(Bispecific antibody, diabody)の分析にも応用されています。

疎水クロマトグラフィー

抗体の代表的な不均一性の一つにFc領域のメチオニン残基(Met)の酸化が挙げられます。抗体のパepsin消化物を疎水クロマトグラフィー(HIC)で測定することによりMet酸化の分析が可能です。TSKgel Butyl-NPRを用いた測定例を図10に示します。

抗体凝集体は単量体に比べ疎水性が高いことが知られています。この疎水性の差を利用し疎水クロマトグラフィー(HIC)により抗体単量体と凝集体を分離することが可能です。硫酸アンモニウムを溶離液として用いた場合はほとんど分離しませんが、塩化ナトリウムを用いたことで、抗体単量体と凝集体(二量体以上)が良好に分離されました(図11)。

ADCは抗体分子に低分子薬物が複数個、複数個所に化学結合しているため不均一性が生じます。低分子薬物は抗体に比べ疎水性が高いため、この不均一性はHICで分析することが可能です。HICを用いて低分子薬物の結合数が異なるADCを分離したクロマトグラムを図12に示します。

親水性相互作用クロマトグラフィー

親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)は親水性の高い化合物を保持・分離することが可能な分離モードで、親水性低分子、核酸、糖類などの分離に利用されます。TSKgel Amide-80やTSKgel NH₂-100が抗体に結合している糖鎖の構造不均一性の分析に使用されています。ヒトIgG由来の2-AB化N型糖鎖をTSKgel Amide-80 2 µmで測定した例を図13に示します。

逆相クロマトグラフィー

逆相クロマトグラフィーはMSとの組み合わせで一般的にペプチドマッピングに利用されます。また、分解物やフラグメント(Fab、Fc、H鎖、L鎖など)の分析、フラグメントの変異体の分析に利用されます。図14にマウスモノクローナル抗体の還元体をTSKgel Protein C₄-300で分離した例を示します。

アフィニティークロマトグラフィー

アフィニティークロマトグラフィーは主として生体高分子同士、或いは低分子物質との親和性により分離する方法です。抗体と親和性があるたんぱく質としてはProtein A、Protein G、Protein Lが知られており、各たんぱく質をリガンドとした充填剤・カラムが抗体の分離に利用されています。TSKgel Protein A-5PWはアルカリ耐久性があり、抗体吸着量が高い組換えProtein Aを固定化した分析カラムで、抗体の定量範囲が広く、耐久性が高いことが特長です。また、1分以内での抗体の短時間測定が可能です。図15にCHO細胞培養液上清中の抗体をTSKgel Protein A-5PWで分離した例を示します。

フェニルボロン酸はアルカリ条件下で1,2-cis-ジオールと共有結合することが知られています。この作用を利用しフェニルボロン酸をリガンドとしたカラムを用いて糖たんぱく質を分離することが可能です。図16にTSKgel Boronate-5PWを用いて糖化抗体を分離した例を示します。

表1. 抗体医薬品のHPLC分析に用いられる主な分離モードと特長

分離モード	分離原理	特長、用途	カラム
サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)	分子の大きさ	抗体の単量体と凝集体(二量体、多量体など)の分離、または抗体の低分子分解物との分離。カラムを2本直列接続して分析する場合もある。	TSKgel UP-SW3000 TSKgel SuperSW mAb TSKgel UltraSW Aggregate TSKgel G3000SW _{XL} TSKgel SuperSW3000 TSKgel G2000SW _{XL} TSKgel SuperSW2000
イオン交換クロマトグラフィー (IEC)*	分子のイオン性	抗体の荷電の違いによる異性体(チャージアイソマー)の分離。非多孔性充填剤を用いて高分離で短時間の分析が可能。	TSKgel CM-STAT TSKgel SP-STAT TSKgel Q-STAT
疎水クロマトグラフィー (HIC)	分子の表面疎水性	抗体の立体構造における表面疎水性に基いた分離。IECで分離できない構造異性体の分離に適している。	TSKgel Butyl-NPR TSKgel Phenyl-5PW
親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC)	分子の親水性	抗体結合糖鎖の構造解析に適している。	TSKgel Amide-80 TSKgel NH ₂ -100
逆相クロマトグラフィー (RPC)	分子の疎水性	高分離能、ペプチドマッピング、フラグメントの分析に適している。	TSKgel Protein C ₄ -300
アフィニティークロマトグラフィー (AFC)	生物学的親和性	培養液中の抗体の定量。糖化抗体の分離定量。	TSKgel Protein A-5PW TSKgel Boronate-5PW

* 同様な目的で、キャピラリー電気泳動を用いる場合もある

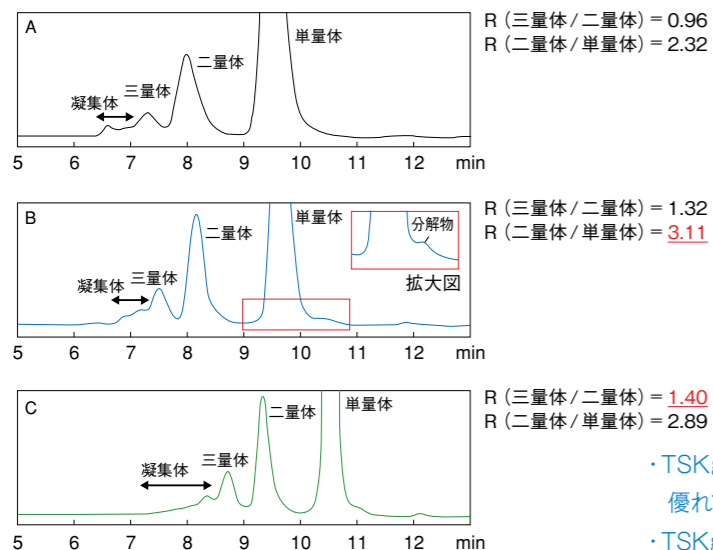


図1. 抗体医薬品の分離

カラム: A. TSKgel G3000SW_{XL}
 B. TSKgel SuperSW mAb HR
 C. TSKgel UltraSW Aggregate
 カラムサイズ: 7.8 mm I.D. × 30 cm
 溶離液: 0.2 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.7) + 0.05% NaN₃
 流速: 0.8 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 温度: 25 °C
 試料: マウス-ヒトキメラIgG
 注入量: 10 μL

- ・TSKgel SuperSW mAb HRはmAb二量体と単量体の分離に優れています。フラグメントの分離も可能です。
- ・TSKgel UltraSW AggregateはmAb三量体と二量体の分離に優れています。凝集体部分の分離帯が最も広いカラムです。

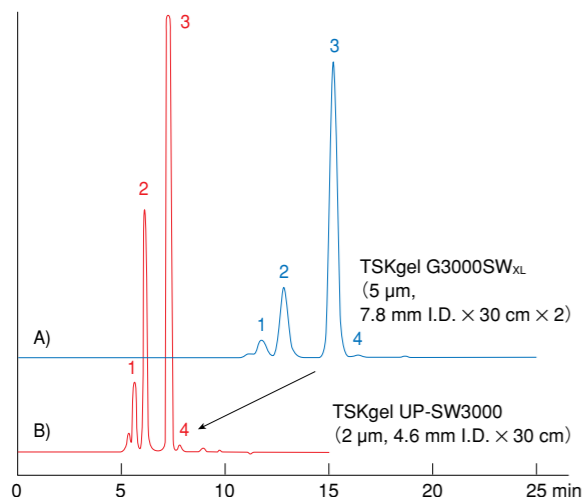


図2. G3000SW_{XL} (2本連結) とUP-SW3000 (1本) の分離能の比較

カラム: A; TSKgel G3000SW_{XL} (5 μm, 7.8 mm I.D. × 30 cm × 2)
 B; TSKgel UP-SW3000 (2 μm, 4.6 mm I.D. × 30 cm)
 溶離液: 100 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.7) + 100 mmol/L 硫酸ナトリウム + 0.05% NaN₃
 流速: A; 1.0 mL/min, B; 0.35 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 温度: 25 °C
 試料: マウス-ヒトキメラIgG
 1. 三量体 2. 二量体 3. 単量体 4. フラグメント

UP-SW3000 1本でG3000SW_{XL} 2本連結より高い分離能が半分の時間で得られます。

カラム	カラムサイズ (mm I.D. × cm)	R (peak 1/2)	R (peak 2/3)	R (peak 3/4)
A) TSKgel G3000SW _{XL} × 2	7.8 × 30 + 7.8 × 30	1.60	3.63	1.77
B) TSKgel UP-SW3000	4.6 × 30	2.16	5.02	2.56

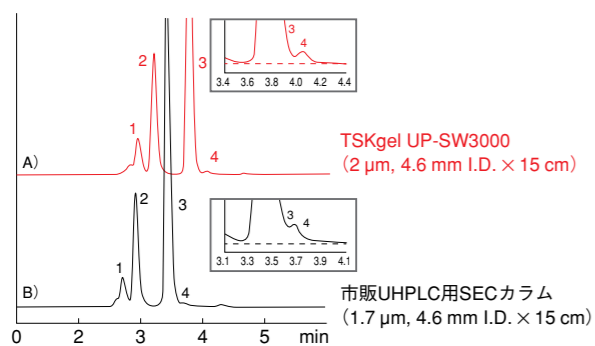
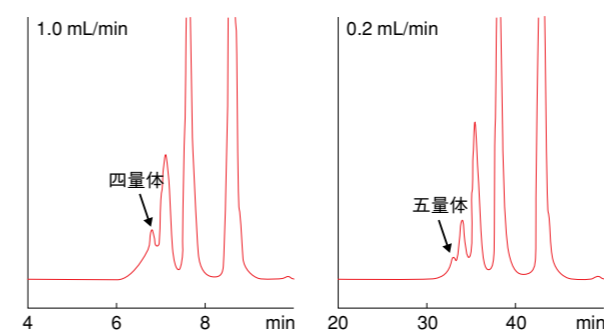


図3. モノクローナル抗体の分離(市販カラムとの比較)

カラム: A; TSKgel UP-SW3000 (2 μm, 4.6 mm I.D. × 15 cm)
 B; 市販UHPLC用SECカラム (1.7 μm, 4.6 mm I.D. × 15 cm)
 溶離液: 100 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.7) + 100 mmol/L 硫酸ナトリウム + 0.05% NaN₃
 流速: 0.35 mL/min
 温度: 25 °C
 検出: UV (280 nm), マイクロセル
 注入量: 5 μL, Rheodyne Model 8125
 試料: マウス-ヒトキメラIgG
 1. 三量体 2. 二量体 3. 単量体 4. フラグメント

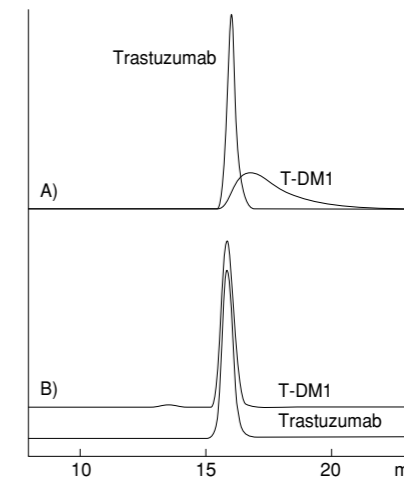
モノクローナル抗体の三量体/二量体/単量体の分離能が高く、単量体/フラグメントの分離が良好です。

カラム	R (peak 1/2)	R (peak 2/3)
A) TSKgel UP-SW3000	1.52	3.56
B) 市販UHPLC用SECカラム	1.25	3.47



カラム: TSKgel UltraSW Aggregate (7.8 mm I.D. × 30 cm)
 溶離液: 0.2 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.7) + 0.05% NaN₃
 流速: 0.2, 1.0 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 温度: 25 °C
 注入量: 10 μL
 試料: ヒトモノクローナル抗体、5 g/L

図4. 凝集体の分離



カラム: TSKgel G3000SW_{XL} (7.8 mm I.D. × 30 cm)
 溶離液: A: 0.2 mol/L リン酸カリウム緩衝液 + 0.25 mol/L KCl (pH 6.95)
 B: A/イソプロパノール=85/15
 流速: 0.5 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 試料: Trastuzumab, T-DM1
 * A. Wakankar, et al., *mAbs* 3(2), 161-172, 2011

図5. ADCのSECによる分離

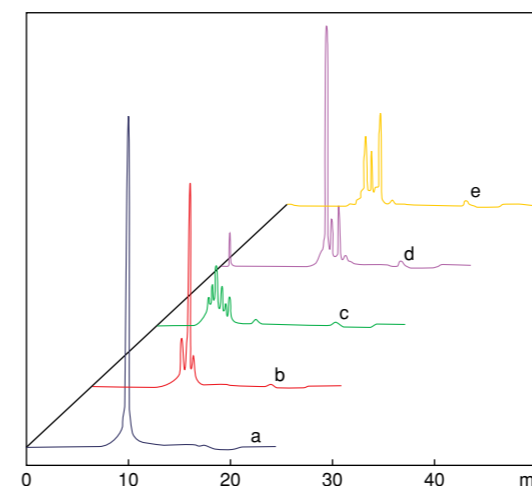


図6. イオン交換クロマトグラフィーによるモノクローナル抗体医薬品の分離(塩濃度グラジエント)

カラム: TSKgel CM-STAT (4.6 mm I.D. × 10 cm)
 溶離液: A: 20 mmol/L MES緩衝液 (pH 6.0)
 B: 20 mmol/L MES緩衝液 + 0.5 mol/L NaCl (pH 6.0)
 グラジエント: 10% B → 30% B、15分、リニア
 流速: 1.0 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 温度: 25 °C
 試料: モノクローナル抗体医薬品 a, b, c, d, e
 注入量: 20 μL (0.5 g/L)
 (本データは相模中央研究所 柿谷博士の御厚意によります)

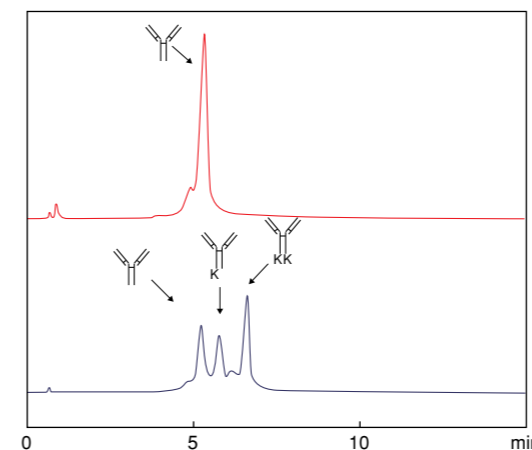
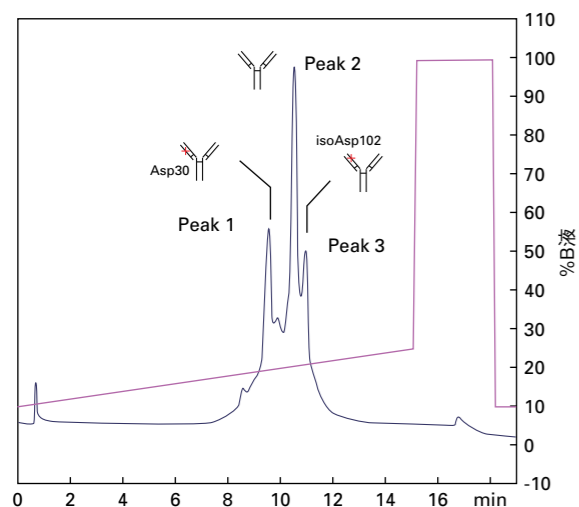


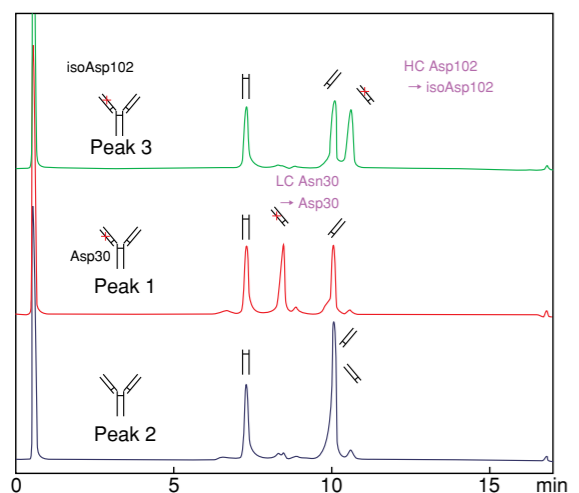
図7. モノクローナル抗体のIECによる分離(H鎖C末Lys残基の欠失変異体分析)

カラム: TSKgel CM-STAT (4.6 mm I.D. × 10 cm)
 溶離液: A: 20 mmol/L MES緩衝液 (pH 6.0)
 B: 20 mmol/L MES緩衝液 + 0.5 mol/L NaCl (pH 6.0)
 グラジエント: 10% B → 30% B、15分、リニア
 流速: 1.0 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 温度: 25 °C
 注入量: 20 μL
 試料濃度: 0.5 g/L
 試料: モノクローナル抗体医薬品
 (上図: カルボキシペプチダーゼB処理品、下図: 未処理品)



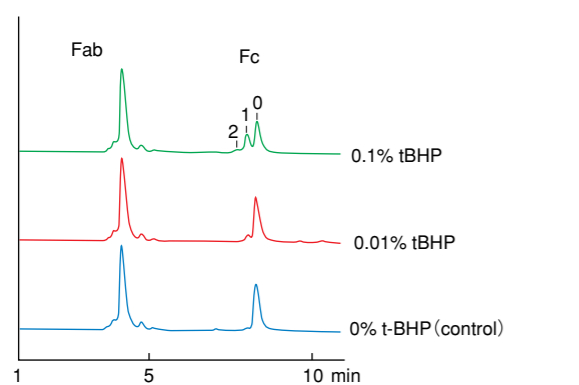
カラム: TSKgel CM-STAT (4.6 mm I.D. × 10 cm)
 溶離液: A: 20 mmol/L MES 緩衝液 (pH 6.0)
 B: 20 mmol/L MES 緩衝液 + 0.5 mol/L NaCl (pH 6.0)
 グラジエント: 10% B → 25% B、15分、リニア
 流速: 1.0 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 温度: 30 °C
 試料: モノクローナル抗体、0.2 g/L、20 μL

図8. モノクローナル抗体のIECによる分析(Asn 残基の脱アミド化、Asp 残基の異性体化変異体分析)



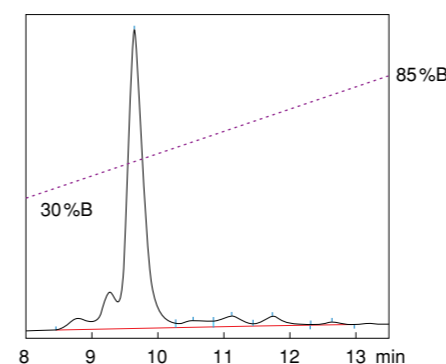
カラム: TSKgel SP-STAT (4.6 mm I.D. × 10 cm)
 溶離液: A: 20 mmol/L MES 緩衝液 (pH 6.0)
 B: 20 mmol/L MES 緩衝液 + 0.5 mol/L NaCl (pH 6.0)
 グラジエント: 0% B → 25% B、15分、リニア
 流速: 1.0 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 温度: 30 °C
 試料: 図8クロマトグラムの各分画をパパイン消化し得られた分解物

図9. モノクローナル抗体のIECによる分析(図8の各ピークのフラグメント分析)



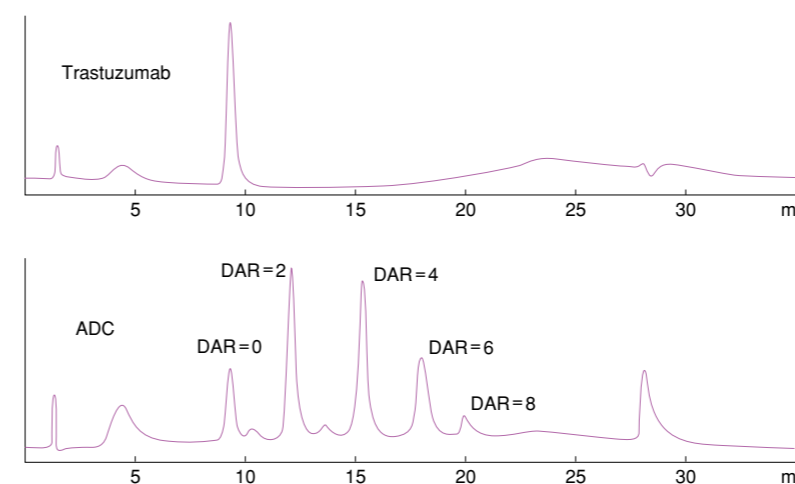
カラム: TSKgel Butyl-NPR (4.6 mm I.D. × 3.5 cm)
 溶離液: A: 20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 + 2 mol/L 硫酸アンモニウム (pH 7.0)
 B: 20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0)
 グラジエント: 25% B → 60% B、10分、リニア
 流速: 1.0 mL/min
 検出: UV (214 nm)
 温度: 35 °C
 注入量: 2 g/L、2 μL
 試料: モノクローナル抗体医薬品
 * パパインで酵素消化後注入
 * Fcピークの数字(0、1、2) はメチオン残基酸化体数

図10. モノクローナル抗体のHICによる分析(Met 残基酸化体分析)



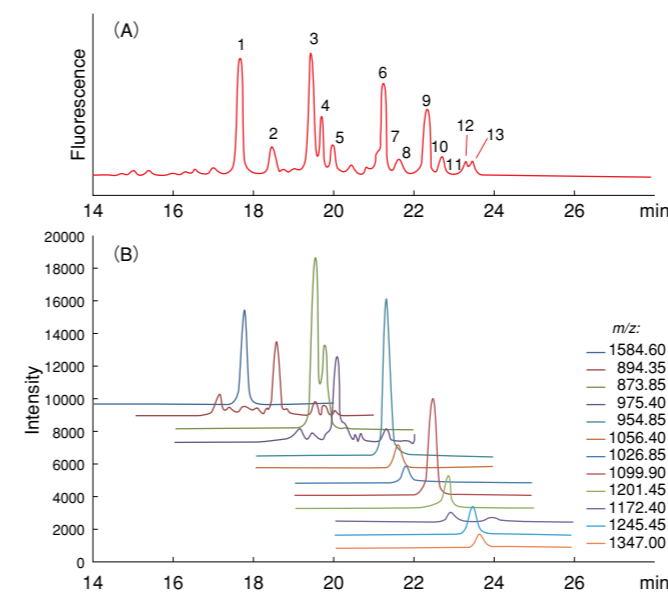
カラム: TSKgel Butyl NPR (4.6 mm I.D. × 3.5 cm)
 溶離液: A: 20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 + 3 mol/L NaCl (pH 7.0)
 B: 20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0)
 グラジエント: 30% B → 85% B、10分、リニア
 流速: 1.0 mL/min
 検出: 蛍光 (Ex. 280 nm; Em. 348 nm)
 注入量: 5 μg

図11. モノクローナル抗体の凝集体、フラグメントのHICによる分離



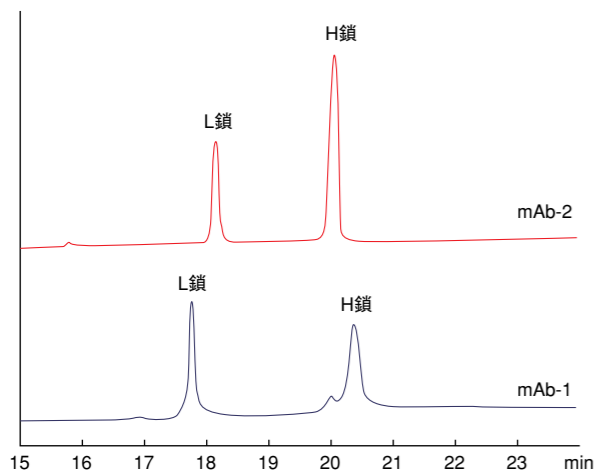
カラム: TSKgel Butyl-NPR (4.6 mm I.D. × 10 cm)
 溶離液: A: 25 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) + 1.5 mol/L 硫酸アンモニウム
 B: 25 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) / イソプロパノール = 8 / 2
 グラジエント: 0% B → 100% B、20分、リニア
 流速: 0.5 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 注入量: 10 μL
 試料濃度: Trastuzumab; 0.24 g/L
 ADC (Trastuzumab-vcMMAE); 2.2 g/L

図12. TrastuzumabとADCのHICによる分離



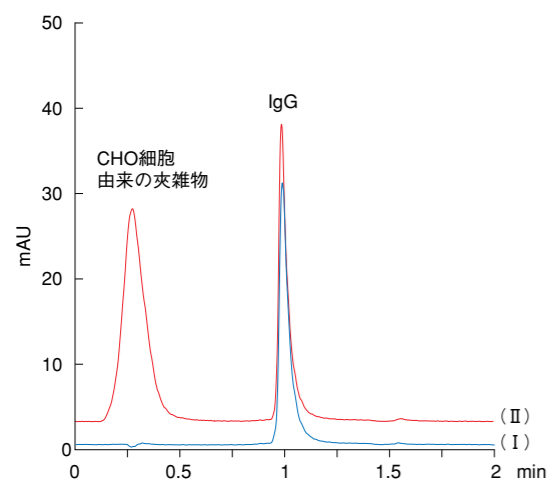
カラム: TSKgel Amide-80 2 μm (2.0 mm I.D. × 15 cm)
 溶離液: A: 50 mmol/L ギ酸アンモニウム緩衝液 (pH 7.5)
 B: アセトニトリル
 グラジエント: 75% B (0-5分)、75 → 50% B (5-30分)
 流速: 0.3 mL/min
 温度: 40 °C
 試料: 2-AB 化 N 型糖鎖 (ヒト IgG) (Ludger, cat.# CLIBN-IGG-01) ~80 μg (80% アセトニトリルで希釈)
 検出: (A) 蛍光
 Ex. 330 nm; Em. 420 nm
 (B) MS, ESI positive, SIM (Shimadzu LCMS-8030)

図13. 2-AB 化糖鎖のLC-MS分析



カラム: TSKgel Protein C₄-300 (4.6 mm I.D. × 15 cm)
 溶離液: A: H₂O/アセトニトリル/TFA=90/10/0.05 (v/v/v)
 B: H₂O/アセトニトリル/TFA=20/80/0.05 (v/v/v)
 グラジエント: 0% B → 100% B、45分、リニア
 流速: 1.0 mL/min
 検出: UV (215 nm)
 温度: 50 °C
 注入量: 100 μL
 試料: mAb-1, mAb-2 (ジチオスレイトールで還元)

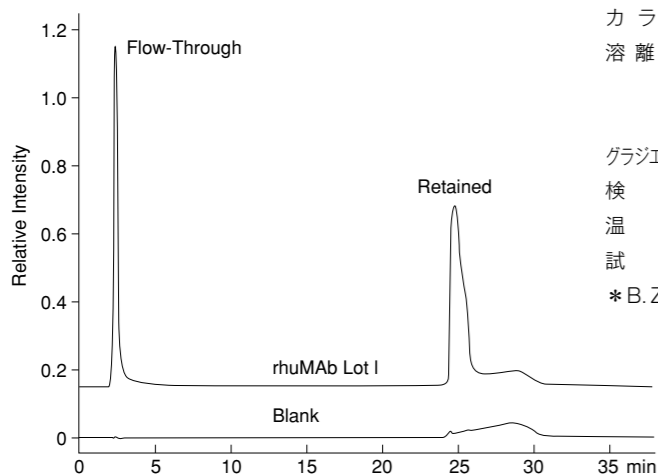
図 14. モノクローナル抗体還元体のRPCによる分離



カラム: TSKgel Protein A-5PW (4.6 mm I.D. × 3.5 cm)
 溶離液: A: 20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4)
 B: 20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.5)
 溶離液切替: 0 → 0.5分 溶離液A
 0.5 → 1.1分 溶離液B
 1.1 → 2.0分 溶離液A (再平衡化)
 (ポンプとインジェクタとの間にスタティックミキサ(容量10 μL)を装着)
 流速: 2.0 mL/min
 検出: UV (280 nm)
 温度: 25 °C
 注入量: 20 μL
 試料: (I) 0.5 g/L ポリクローナルIgG (溶離液Aに溶解)
 (II) 0.5 g/L ポリクローナルIgGを含むCHO細胞培養液上清

CHO細胞培養液上清中のIgGが短時間で分離可能です(分析時間2分)。

図 15. ポリクローナルIgGの分離



カラム: TSKgel Boronate-5PW (7.5 mm I.D. × 7.5 cm)
 溶離液: A: 50 mmol/L EPPS, 10 mmol/L Tris,
 200 mmol/L NaCl, 0.05% NaN₃
 B: 溶離液A + 500 mmol/L ソルビトール
 グラジエント: 0% B (0-20分)、0 → 100% B (20-25分)
 検出: UV (280 nm)
 温度: 40 °C
 試料: ヒトモノクローナル抗体
 * B. Zhang, et al., Anal. Chem. 2008, 80, 2379-2390

図 16. 糖化抗体のAFCによる分離

製品一覧 (品質管理、分析用カラム)

● サイズ排除クロマトグラフィー

品番	品名	粒子径	カラムサイズ	排除限界分子量 (たんぱく質)	TP/カラム	価格(円)
0023449	TSKgel UP-SW3000	2 μm	4.6 mm I.D. × 15 cm	5 × 10 ⁵	25,000*	230,000
0023448	TSKgel UP-SW3000	2 μm	4.6 mm I.D. × 30 cm	5 × 10 ⁵	45,000*	320,000
0022854	TSKgel SuperSW mAb HR	4 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm	5 × 10 ⁵	30,000	240,000
0022855	TSKgel SuperSW mAb HTP	4 μm	4.6 mm I.D. × 15 cm	5 × 10 ⁵	15,000	180,000
0022856	TSKgel UltraSW Aggregate	3 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm	2.5 × 10 ⁶	35,000	250,000
0018674	TSKgel SuperSW2000	4 μm	4.6 mm I.D. × 30 cm	1 × 10 ⁵	30,000*	210,000
0021845	TSKgel SuperSW3000	4 μm	1.0 mm I.D. × 30 cm	5 × 10 ⁵	18,000**	230,000
0021485	TSKgel SuperSW3000	4 μm	2.0 mm I.D. × 30 cm	5 × 10 ⁵	25,000**	230,000
0018675	TSKgel SuperSW3000	4 μm	4.6 mm I.D. × 30 cm	5 × 10 ⁵	30,000*	210,000
0008540	TSKgel G2000SWxL	5 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm	1 × 10 ⁵	20,000	210,000
0008541	TSKgel G3000SWxL	5 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm	5 × 10 ⁵	20,000	210,000
0008542	TSKgel G4000SWxL	8 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm	7 × 10 ⁶ (推定)	16,000	210,000

出荷溶媒: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 + 0.1 mol/L Na₂SO₄ + 0.05% NaN₃水溶液 (pH 6.7)
 *セミマイクロHPLCシステム使用時
 **キャピラリーLCシステム使用時
 ※4.6 mm I.D.カラムはセミマイクロHPLCシステム、2.0 mm I.D.及び1.0 mm I.D.カラムはマイクロあるいはキャピラリーLCシステムでの使用をお勧めします。
 通常のHPLCシステムではSuperSWカラムの性能が十分発揮できない場合がありますのでご注意ください。

ガードカラム・補用ゲル

品番	品名	カラムサイズ	備考	価格(円)
0023450	TSKgel guardcolumn UP-SW	4.6 mm I.D. × 2 cm	UP-SW3000用	55,000
0023451	TSKgel guardcolumn UP-SW DC	4.6 mm I.D. × 2 cm	UP-SW3000用	55,000
0022857	TSKgel guardcolumn SuperSW mAb	6.0 mm I.D. × 4 cm	品番0022854用	45,000
0022858	TSKgel guardcolumn SuperSW mAb	3.0 mm I.D. × 2 cm	品番0022855用	43,000
0022859	TSKgel guardcolumn UltraSW	6.0 mm I.D. × 4 cm	品番0022856用	45,000
0018762	TSKgel guardcolumn SuperSW	4.6 mm I.D. × 3.5 cm	SuperSWシリーズ用	43,000
0008543	TSKgel guardcolumn SWxL	6.0 mm I.D. × 4 cm	SWxLシリーズ用	43,000

出荷溶媒: 0.1 mol/L リン酸緩衝液 + 0.1 mol/L Na₂SO₄ + 0.05% NaN₃水溶液 (pH 6.7)
 ※品番0023451は分析カラムに直接接続可能です。

● イオン交換クロマトグラフィー

品番	品名	粒子径	カラムサイズ	交換容量	出荷時対イオン	価格(円)
0021961	TSKgel Q-STAT	7 μm	4.6 mm I.D. × 10.0 cm	270 μeq/g-drygel	Cl ⁻	180,000
0021960	TSKgel Q-STAT	10 μm	3.0 mm I.D. × 3.5 cm	270 μeq/g-drygel	Cl ⁻	120,000
0021964	TSKgel SP-STAT	7 μm	4.6 mm I.D. × 10.0 cm	23 μeq/g-drygel	Na ⁺	180,000
0021963	TSKgel SP-STAT	10 μm	3.0 mm I.D. × 3.5 cm	23 μeq/g-drygel	Na ⁺	120,000
0021966	TSKgel CM-STAT	7 μm	4.6 mm I.D. × 10.0 cm	100 μeq/g-drygel	Na ⁺	180,000
0021965	TSKgel CM-STAT	10 μm	3.0 mm I.D. × 3.5 cm	100 μeq/g-drygel	Na ⁺	120,000
0013075	TSKgel DEAE-NPR	2.5 μm	4.6 mm I.D. × 3.5 cm	約0.1 eq/L	Cl ⁻	101,000
0018249	TSKgel DNA-NPR	2.5 μm	4.6 mm I.D. × 7.5 cm	約0.1 eq/L	Cl ⁻	120,000
0013076	TSKgel SP-NPR	2.5 μm	4.6 mm I.D. × 3.5 cm	約0.1 eq/L	Na ⁺	101,000
0021942	TSKgel SP-NPR	2.5 μm	0.3 mm I.D. × 5.0 cm	約0.1 eq/L	Na ⁺	130,000

出荷溶媒: 水

● 疎水クロマトグラフィー

品番	品名	粒子径	カラムサイズ	官能基	細孔径 nm (推定)	価格(円)
0007573	TSKgel Phenyl-5PW	10 μm	7.5 mm I.D. × 7.5 cm	フェニル基	100	101,000
0008641	TSKgel Ether-5PW	10 μm	7.5 mm I.D. × 7.5 cm	オリゴエチレングリコール基	100	101,000
0014947	TSKgel Butyl-NPR	2.5 μm	4.6 mm I.D. × 3.5 cm	ブチル基	非多孔性	101,000
0042168	TSKgel Butyl-NPR	2.5 μm	4.6 mm I.D. × 10 cm	ブチル基	非多孔性	200,000

出荷溶媒: 水

ガードカラム

品番	品名	対象カラム	価格(円)
0007652	TSKgel guardgel Phenyl-5PW	品番0007573*	31,000
0008643	TSKgel guardgel Ether-5PW	品番0008641*	31,000

* 充填剤5 mL、TSKgel guardgel用ホルダー (6 mm I.D. × 1 cm)、予備フィルター10枚、ジョイント

● 順相クロマトグラフィー

分析カラム (Amide-80 2μm)					
品番	品名	粒子径	カラムサイズ	出荷溶媒	価格(円)
0023454	TSKgel Amide-80 2μm	2μm	2.0 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル/水=85/15	75,000
0023455	TSKgel Amide-80 2μm	2μm	2.0 mm I.D. × 10 cm	アセトニトリル/水=85/15	85,000
0023456	TSKgel Amide-80 2μm	2μm	2.0 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル/水=85/15	95,000
0023457	TSKgel Amide-80 2μm	2μm	3.0 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル/水=85/15	80,000
0023458	TSKgel Amide-80 2μm	2μm	3.0 mm I.D. × 10 cm	アセトニトリル/水=85/15	90,000
0023459	TSKgel Amide-80 2μm	2μm	3.0 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル/水=85/15	100,000

分析カラム (Amide-80 3μm)					
品番	品名	粒子径	カラムサイズ	出荷溶媒	価格(円)
0021864	TSKgel Amide-80 3μm	3μm	2.0 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル/水=85/15	55,000
0021865	TSKgel Amide-80 3μm	3μm	2.0 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル/水=85/15	75,000
0021866	TSKgel Amide-80 3μm	3μm	4.6 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル/水=85/15	55,000
0021867	TSKgel Amide-80 3μm	3μm	4.6 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル/水=85/15	75,000

分析カラム (Amide-80 5μm)					
品番	品名	粒子径	カラムサイズ	出荷溶媒	価格(円)
0019694	TSKgel Amide-80 5μm	5μm	2.0 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル/水=75/25	51,000
0019695	TSKgel Amide-80 5μm	5μm	2.0 mm I.D. × 10 cm	アセトニトリル/水=75/25	63,000
0019696	TSKgel Amide-80 5μm	5μm	2.0 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル/水=75/25	70,000
0019697	TSKgel Amide-80 5μm	5μm	2.0 mm I.D. × 25 cm	アセトニトリル/水=75/25	94,000
0019532	TSKgel Amide-80 5μm	5μm	4.6 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル/水=75/25	42,000
0019533	TSKgel Amide-80 5μm	5μm	4.6 mm I.D. × 10 cm	アセトニトリル/水=75/25	52,000
0013071	TSKgel Amide-80 5μm	5μm	4.6 mm I.D. × 25 cm	アセトニトリル/水=75/25	73,000

分析カラム (Amide-80 HR 5μm)					
品番	品名	粒子径	カラムサイズ	出荷溶媒	価格(円)
0021982	TSKgel Amide-80 HR 5μm	5μm	4.6 mm I.D. × 25 cm	アセトニトリル/水=85/15	88,000

ガードカラム/ホルダ					
品番	品名	カラムサイズ	対象カラム	価格(円)	
0023460	TSKgel guardcolumn Amide-80 2μm	2.0 mm I.D. × 1 cm	2.0 mm I.D. 及び 3.0 mm I.D. カラム	55,000	
0021862	TSKgel guardgel Amide-80 3μm	2.0 mm I.D. × 1 cm	2.0 mm I.D. カラム	30,000	
0021863	TSKgel guardgel Amide-80 3μm	3.2 mm I.D. × 1.5 cm	4.6 mm I.D. カラム	35,000	
0021941	TSKgel guardgel Amide-80 5μm	2.0 mm I.D. × 1 cm	2.0 mm I.D. カラム	20,000	
0019010	TSKgel guardgel Amide-80 5μm	3.2 mm I.D. × 1.5 cm	4.6 mm I.D. カラム, Amide-80HR 5μm	25,000	
0019308	カートリッジホルダ (2.0×1用)	—	—	45,000	
0019018	カートリッジホルダ (3.2×1.5用)	—	—	45,000	

※TSKgel guardgel はカートリッジタイプ(3本/セット)です。カートリッジホルダが必要です。

分析カラム (NH ₂ -100 3μm)					
品番	品名	粒子径	カラムサイズ	出荷溶媒	価格(円)
0021967	TSKgel NH ₂ -100 3μm	3μm	2.0 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル/水=85/15	55,000
0021968	TSKgel NH ₂ -100 3μm	3μm	2.0 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル/水=85/15	75,000
0021969	TSKgel NH ₂ -100 3μm	3μm	4.6 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル/水=85/15	55,000
0021970	TSKgel NH ₂ -100 3μm	3μm	4.6 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル/水=85/15	75,000

ガードカラム/ホルダ					
品番	品名	カラムサイズ	対象カラム	価格(円)	
0021971	TSKgel guardgel NH ₂ -100 3μm	2.0 mm I.D. × 1 cm	2.0 mm I.D. カラム	30,000	
0021972	TSKgel guardgel NH ₂ -100 3μm	3.2 mm I.D. × 1.5 cm	4.6 mm I.D. カラム	35,000	
0019308	カートリッジホルダ (2.0×1用)	—	品番 0021971	45,000	
0019018	カートリッジホルダ (3.2×1.5用)	—	品番 0021972	45,000	

※TSKgel guardgel はカートリッジタイプ(3本/セット)です。カートリッジホルダが必要です。

● 逆相クロマトグラフィー

分析カラム (Protein C ₄ -300)					
品番	品名	粒子径	カラムサイズ	出荷溶媒	価格(円)
0022830	TSKgel Protein C ₄ -300	3μm	2.0 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル	73,000
0022831	TSKgel Protein C ₄ -300	3μm	2.0 mm I.D. × 10 cm	アセトニトリル	83,000
0022832	TSKgel Protein C ₄ -300	3μm	2.0 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル	93,000
0022827	TSKgel Protein C ₄ -300	3μm	4.6 mm I.D. × 5 cm	アセトニトリル	73,000
0022828	TSKgel Protein C ₄ -300	3μm	4.6 mm I.D. × 10 cm	アセトニトリル	83,000
0022829	TSKgel Protein C ₄ -300	3μm	4.6 mm I.D. × 15 cm	アセトニトリル	93,000

分析ガードカラム/ホルダ					
品番	品名	カラムサイズ	備考	価格(円)	
0022834	TSKgel guardgel Protein C ₄	2.0 mm I.D. × 1 cm	2.0 mm I.D.用	35,000	
0022833	TSKgel guardgel Protein C ₄	3.2 mm I.D. × 1.5 cm	4.6 mm I.D.用	40,000	
0019308	カートリッジホルダ 2.0 mm I.D.用	—	—	45,000	
0019018	カートリッジホルダ 3.2 mm I.D.用	—	—	45,000	

※TSKgel guardgel は、カートリッジタイプ(3本/セット)です。カートリッジホルダが必要です。

● アフィニティークロマトグラフィー

分析カラム						
品番	品名	粒子径	カラムサイズ	官能基	出荷溶媒	価格(円)
0023483	TSKgel Protein A-5PW	20μm	4.6 mm I.D. × 3.5 cm	組換えプロテインA	*	140,000
0013066	TSKgel Boronate-5PW	10μm	7.5 mm I.D. × 7.5 cm	m-アミノフェニルボロン酸	水	101,000

*20%エタノール水溶液
カラムは要冷蔵：TSKgel Protein A-5PWは2~8℃、TSKgel Boronate-5PWは4~10℃