

NW Rose Plus Qイオン交換クロマトグラフィー媒体

製品紹介

イオン交換クロマトグラフィー（Ion Exchange Chromatography, IEC）は、現代のバイオテクノロジーで最も広く使用されている精製方法の一つであり、1960年代から生体分子の分離に応用され、生体分子の分離・精製において重要な役割を果たしてきました。現在、イオン交換クロマトグラフィー技術は、最も広く応用されている方法の一つとして、タンパク質、ペプチド、核酸、その他の帯電した生体分子の分離・精製に用いられ、高い結合容量で高い分解能の分離を提供しています。バイオテクノロジー薬剤の発展に伴い、高い結合容量を持つイオン交換技術の需要が大幅に増加しています。

NW Rose Plus Q強陰イオン交換クロマトグラフィー媒体は、高剛性で高流速のアガロース微粒子を基材としており、オープンな大孔構造を持ち、より優れた圧力流速曲線を示します。基材の表面には強陰イオン性リガンドが結合されており、高分子量タンパク質（例：IgG、IgM、IgAなど）の精製に適しています。

NW Rose Plus Q強陰イオン交換クロマトグラフィー媒体の特徴：

- 高流速での高動的結合容量により、生産効率が向上します。
- 高体積流量により、精製プロセスの時間が短縮されます。
- 操作が簡単で、コスト効率が優れています。
- 簡単なインプレース洗浄および消毒プロセスが可能です。

表1. NW Rose Plus Q 技術仕様

項目	詳細
製品型式	NW Rose Plus Q
分離原理	強陰イオン交換
基材	高流速・高剛性アガロース微粒子
粒径	約90 μm
リガンド	第四級アンモニウム基
動的結合容量	>120 mg/mL（リゾチーム）
イオン容量	110-140μmol/mL（Cl ⁻ ）
最大耐圧	0.3MPa
CIPインプレース洗浄	0.5M NaOH
推奨流速	300-500cm/h、700cm/h（0.1MPa、XK26/30カラム、高さ15cm、25）
最大流速	700 cm/h
pH安定性	2-12（作業時）、2-14（CIP時）
化学的安定性	一般的水溶液、1M NaOH、6M 塩酸グアニジン、30%イソプロパノール、70%エタノール
使用温度	4-40° C
保存条件	20% エタノール、4-30° C

使用前の準備作業

1, 推奨するクロマトグラフィーカラムの種類:

用途に応じてクロマトグラフィーカラムを選択:

生体高分子の精製の場合はカラムの高さは10-20cmのカラムを選択します。

2, NW Rose Plus Qクロマトグラフィー媒体の処理:

クロマトグラフィーカラムの体積に基づいて必要なNW Rose Plus Qの質量を計算します。
カラム体積 = カラムの底面積 x 充填層の高さ

クロマトグラフィー媒体の量 (mLまたはL) =
(カラム体積 x クロマトグラフィー媒体の圧縮係数)

NW Rose Plus Qの圧縮係数は1.15です。

スラリーの使用量 (mLまたはL) = クロマトグラフィー媒体の量 / スラリーの濃度

注意:

1) 使用する緩衝液または水は脱気処理が必要です (注射用水の場合は脱気処理は不要です)。

2) 一般的に、包装状態のスラリー濃度は75%前後です。スラリー濃度が不確かである場合、クロマトグラフィー媒体のスラリーをメスシリンダーに注ぎ、一晩静置し (一般12~20時間) で、自然沈降したクロマトグラフィー媒体の体積を計算します。

3) 包装状態のNW Rose Plus Qは20%エタノール中に保存されています。砂芯フィルターを使用し、負圧ろ過でカラムの充填緩衝液に置き換えます (カラムの充填緩衝液は一般的に水または20%エタノール、もしくは平衡緩衝液を使用します)。この手順を3回繰り返します。攪拌時に過度の力を加えないでください。

4) 高圧蒸気滅菌が必要な場合は、121℃、20分間の高圧蒸気滅菌を行ってください。

5) ゲルが膨潤する際には磁気攪拌子を使用しないでください。磁気攪拌子を使用すると、クロマトグラフィー媒体の粒子が破損する可能性があります。

6) スラリーの濃度が50%~75%になるように調製して、よく攪拌してから使用してください。注意: スラリーの温度が高すぎた場合は、カラムが破損する恐れがあります。

カラム充填

クロマトグラフィーカラムの使用手順については、カラムメーカーごとに異なるため、使用手冊を参照してください。

1) カラムの充填緩衝液には、一般的に脱イオン水または0.15M NaClを平衡緩衝液として使用します。

2) カラムの水平を調整します。

3) カラムの底部フィルターを排気し、カラム底部に1cmの充填緩衝液を保持します。

4) カラム充填器を設置します。通常、充填の高さがカラムの2/3を超える場合、充填器を追加で装着する必要があります。

5) よく攪拌したゲルの懸濁液を一度にゆっくりとカラムに注ぎます。この際、気泡が入らないように注意し、注入後に再度ゲル攪拌棒で均一に混ぜます。

6) カラムヘッドを接続し、カラムヘッドとシステムまたは蠕動ポンプの間に圧力計を設置することに注意します (工業用規模のカラムには必要)。カラムヘッドのフィルターの排気を行います。

7) カラムヘッドをカラムに挿入し、カラムヘッドの底部フィルターが液面に接触するようにします。液面とカラムヘッドのフィルターの間の気泡を取り除きます。

8) システムまたは蠕動ポンプを接続し、流速を調整します。圧力を制御し、3barを超えないように注意します。

9) 流速に伴い、クロマトグラフィー媒体の界面が徐々に下降します。クロマトグラフィー媒体の界面が安定するのを待ちます (30分以内に界面がさらに下降しなくなります)。安定したら、界面の位置をマークします。

10) ポンプを停止し、充填器を取り外します (もし使用している場合)。カラムヘッドをクロマトグラフィー媒体の界面まで下げます (マークした位置からさらに0.5 cm下げます)。

11) ポンプを停止する前の流速で、さらに20~30分間、ゲルを圧縮します。クロマトグラフィー媒体の界面が安定した場合、充填が完了です。

12) 充填の推奨流速は300~400cm/hです (実際のクロマトグラフィーシステムおよびカラムに応じて決定します)。

カラム評価

表2. カラム効率評価データ

サンプル	1.0% (v/v) アセトン水溶液	2M NaCl溶液
サンプル量	カラム体積の 1.0%	カラム体積の 1～5%
移動相	水	0.4M NaCl溶液
線形流速	30cm/h	30cm/h
検出	UV 280nm	電導検出器

カラム効率の計算

UVまたは電導率の曲線に基づいて、理論塔板高さ（HETP）、理論塔板数（N）、および非対称因子（As）を計算します。式は以下の通りです。

• $HETP = L / N$

• $N = 5.54 \times (VR / Wh)^2$

ここで：

• VR = 保留体積（Retained Volume）

• Wh = 半峰幅

• L = カラムの高さ

• N = 理論塔板数

VRとWhの単位は一致させる必要があります。

• $As = b / a$

ここで：

• a = 10%ピーク高における第1半峰幅

• b = 10%ピーク高における第2半峰幅

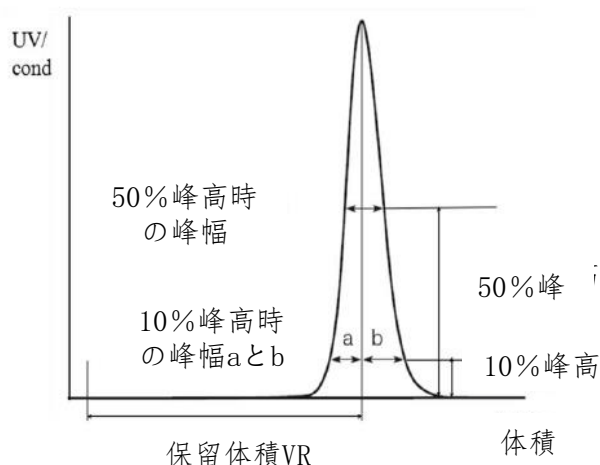


図2. カラム効果評価データの意味

結果評価

上記の公式によって計算されたHETPの値が、膨潤後の媒体の平均粒径の3倍未満であり、かつ非対称因子が0.8～1.8の範囲内であれば、合格と判定されます。理想的でないカラム

効率（柱効）に関しては、原因を分析し、再度カラムを充填する必要があります。異なる用途に応じて、求められるカラム効率は異なります。

a) 精製や分離に高分解能が必要な場合、カラム効率の要件が高くなり、HETPは媒体の平均粒径の2～4倍である必要があります。

b) 成分の分離時には、カラム効率の要件はそれほど高くありません。

クロマトグラフィー媒体の洗浄と再(CIP)

クロマトグラフィー媒体の洗浄と再生クロマトグラフィー媒体を使用する回数が増えるにつれ、汚染物質がカラム上に蓄積し続けます。定期的なインプレース洗浄は、汚染物質の蓄積を防ぎ、安定した作業状態を維持するために重要です。洗浄の頻度は、媒体の汚染度に応じて決定されます（汚染が深刻な場合は、毎回使用後にインプレース洗浄を行い、結果の再現性の確保することを推奨します）。

異なる種類の不純物や汚染物に対する洗浄条件は以下の通りです。

1. 結合の強いタンパク質を除去する場合：2カラムボリュームの2M NaClで洗浄し、結合の強いタンパク質を除去します。または、1M酢酸ナトリウム（NaAC）、pH3を使用してpHを変えることで、より強く結合しているタンパク質を取り除くことも可能です。
2. 強疎水性タンパク質および沈殿タンパク質の除去：まず2～3カラムボリュームの1M NaOHで洗浄し、直後に5～10カラムボリュームの純水で洗浄します。
3. リポタンパク質および脂質の除去：最初に5～10カラムボリュームの70%エタノールまたは30%イソプロパノールで洗浄し、その後5～10カラムボリュームの純水で洗浄します。

クロマトグラフィー媒体の滅菌

NW Rose Plus Q強陰イオン交換クロマトグラフィー媒体は、1M NaOHで0.5～1時間以上処理することで、滅菌およびエンドトキシンの除去を達成します。

クロマトグラフィー媒体の長期保存

使用後のNW Rose Plus Q強陰イオン交換クロマトグラフィー媒体は、20%エタノール中で密閉して保存します。エタノールの蒸発や微生物の成長を防ぐために、3か月ごとに新しい20%エタノールに交換することを推奨します。

廃棄とリサイクル

NW Rose Plus Qは自然界で分解されにくいいため、環境保護のためには焼却処理を行うことを推奨します。

Q&A（質問と回答）

もしNW Rose Plus Q 強陰イオン交換クロマトグラフィー媒体製品を使用中に問題が発生した場合は、以下のQ&Aを参考に解決するか、私たちにご連絡ください。

問題1

クロマトグラフィー媒体を攪拌してスラリー化すると、白い細かい泡が浮かぶことがありますか？

この現象は、長期間使用した後や、媒体を攪拌する際に磁気攪拌器を使用したり、媒体の移送時に蠕動ポンプを使用した際に、媒体の微粒子が破壊されたために発生します。また、長期間使用していない場合、媒体が過度に沈降し、攪拌を始める際に激しく攪拌しすぎたことが原因です。

問題2

イオン交換後、タンパク質の純度が低い？

イオン交換の分離能（解像度）はいくつかの要因によって決まります：

- クロマトグラフィー媒体のカラム効率が高いほど、解像度も高くなります。（カラム効率の測定を参照）
- クロマトグラフィー媒体の粒径が小さいほど、解像度が高く、粒径が大きいと解像度が低くなります。
- 洗脱方法として、線形洗脱は解像度が高いです。
- サンプル中のターゲットと不純物の電荷の違いに基づいて、試験中に最大の差異があるpH環境を見つけ、適切なクロマトグラフィー媒体を選択します。

問題3

イオン交換後、タンパク質の収率が低い場合はどうすればよいですか？

流出液中のサンプル濃度（または活性）を確認し、サンプルがクロマトグラフィー媒体に吸着されているか、部分的にしか吸着されていないかを確認します。（サンプルが過剰な場合も、収率が低い原因です）

再生液中でサンプルを確認し、サンプルが非常に強く吸着しているかどうかを確認します。（バッファや媒体の種類を変更することも可能です）

CIP中にサンプルが残っているかどうかを確認し、サンプルがカラム中で沈殿している場合は、クロマトグラフィー条件を変更します。

問題4

サンプルが吸着しない？

以下の原因が考えられます。

- サンプルが過剰である可能性があります。流出液中のサンプル濃度や活性を確認します。
- サンプルの環境が非常電、またはサンプルの電荷がクロマトグラフィー媒体の電荷と同じ可能性があります。

問題5

サンプルを繰り返しロードできますか？繰り返しロードは何回まで可能ですか？

精製目的が達成され、クロマトグラフィー媒体が汚染されていないかを確認します。通常、サンプルが澄んでいて、粒子や沈殿がなく、分離後のサンプルも澄んでいる場合、このようなサンプルは10～15回まで繰り返しロードすることが可能です。

問題6：イオン交換精製後、どのように脱塩すればよいですか？

ゲルろ過技術を使用して脱塩することができます。例：NW DEX G-25C。または、洗脱時にpHを変える方法で脱塩を行うことも可能です。

問題7：クロマトグラフィー媒体の変色や凝集について

この現象は、クロマトグラフィー媒体を長期間使用した際に発生します。サンプル中の色素、脂質、核酸などによって媒体が汚染された場合です。異なるCIP方法を試して解決を試みてください。一般的なサンプルの場合、NW Rose Plusシリーズのクロマトグラフィー媒体は300～600回使用できますが、複雑なサンプルの場合は100～200回の使用が推奨されます。

問題8：クロマトグラフィー媒体の寿命をどのように判断しますか？

実験室での使用の場合、一般的にはクロマトグラフィー媒体のカラム圧、流速、色などを基に寿命を簡単に判断します。工業生産では、プロセス検証の方法に従って厳密に寿命を確認する必要があります。

NW Rose Plus Q 強陰イオン交換クロマトグラフィー媒体製品仕様書

品名	包装	品番
NW Rose Plus Q	25 mL	60023-531600-2025
	100 mL	60023-531600-2100
	500 mL	60023-531600-2500
	1 L	60023-531600-1001
	5 L	60023-531600-1005
	10 L	60023-531600-1010

注：7.7 mm × 22 mm、16 mm × 25 mm、7.7 mm × 100 mm のクロマトグラフィーカラムを提供可能です。その他の仕様やカスタマイズについては、お問い合わせください。