

03

サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)用カラム

YMC-SEC MAB	80
YMC-Pack Diol	82
オーダリングインフォメーション	84

YMC-SEC MAB

抗体の分離に最適なサイズ排除クロマトグラフィー用カラム

YMC-SEC MABは、シリカゲル基材のサイズ排除(ゲルろ過)クロマトグラフィー用カラムです。非特異的吸着が極めて小さくなるように基材設計や官能基導入法を最適化し、抗体モノマーとその凝集体やフラグメントの優れた分離を実現しました。耐久性やカラム間の再現性にも優れ、抗体医薬品の分析に最適です。

特長

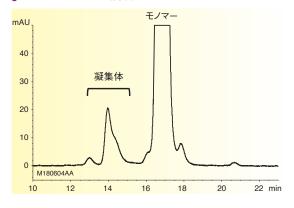
- ●抗体分離用に最適化されたシリカゲル基材のサイズ排除クロマトグラフィー用カラム
- ●抗体の凝集体やフラグメント分析に最適
- ●高分離・良好なピーク形状

仕様

	YMC-SEC MAB		
基材	シリカゲル		
官能基	ジヒドロキシプロピル		
粒子径 (μm)	3		
細孔径 (nm)	25		
使用pH範囲	5-7.5		
適用分子量範囲	10,000-700,000		

抗体の凝集体の分離に最適

》モノクローナル抗体



Column : YMC-SEC MAB (3 μ m, 25 nm), 300 X 4.6 mml.D. Eluent : 0.1 M KH₂PO₄-K₂HPO₄ (pH 7.0) containing 0.2 M NaCl

Flow rate : 0.165 mL/min

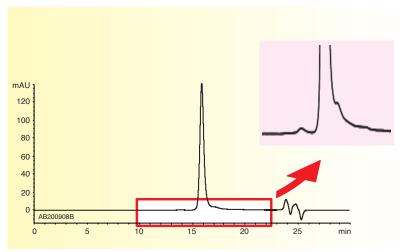
Temperature : 25°C

Detection : UV at 280 nm Injection : $10 \mu L$ (5 mg/mL)

Sample : Humanized monoclonal antibody

YMC-SEC MABを用いてヒト化モノクローナル抗体を分析しました。ピーク形状が良好で、メインピークとその前の凝集体と想定されるピークも十分に分離できています。

》抗体薬物複合体 (ADC)



Column : YMC-SEC MAB (3 µm, 25 nm)

300 X 4.6 mml.D.

Eluent : 0.1 M NaH₂PO₄-Na₂HPO₄ (pH 7.0)

containing 0.2 M NaCl/2-propanol (85/15)

Flow rate : 0.165 mL/min

Temperature : 25°C

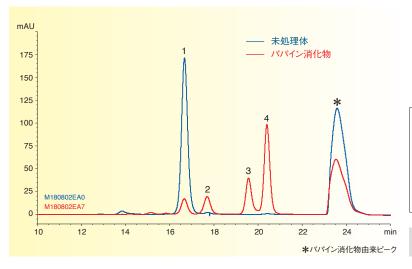
Detection : UV at 280 nm Injection : 4 µL (2.5 mg/mL

 $\begin{array}{ll} \mbox{Injection} & : 4 \ \mu\mbox{L} \ (2.5 \ \mbox{mg/mL}) \\ \mbox{Sample} & : \mbox{Brentuximab vedotin for injection} \\ \end{array}$

Courtesy of Prof. S. Manabe, Hoshi University, Japan/ Tohoku University, Japan

YMC-SEC MABを用いてADCを分析しました。 ADCなど疎水性が高い試料では、2-プロパノールなどの有機 溶媒の添加が効果的な場合があります。

モノクローナル抗体フラグメントの優れた分離





Eluent





3. Fc



Column : YMC-SEC MAB (3 μ m, 25 nm)

300 X 4.6 mml.D.

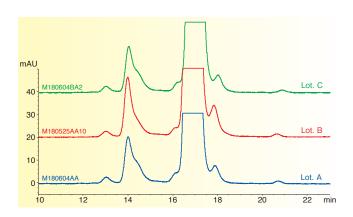
 $: 0.1 \ M \ KH_{2}PO_{4}\text{-}K_{2}HPO_{4} \ (pH \ 7.0)$

containing 0.2 M NaCl

Flow rate : 0.165 mL/min
Temperature : 25°C
Detection : UV at 280 nm
Injection : 2 µL (3 mg/mL)

タンパク質分解酵素パパインで断片化したモノクローナル抗体 の分析において、同等の分子量であるFcとFabも分離良好です。

優れたロット間再現性



Column : YMC-SEC MAB (3 µm, 25 nm)

300 X 4.6 mml.D.

 $Eluent \hspace{1.5cm} : 0.1 \hspace{.1cm} M \hspace{.1cm} KH_2PO_4\text{-}K_2HPO_4 \hspace{.1cm} (pH\hspace{.1cm} 7.0)$

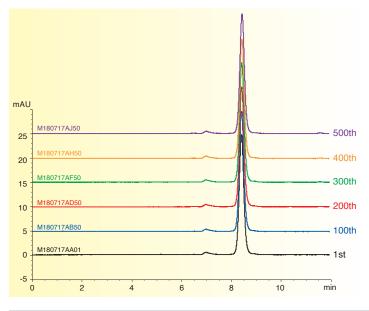
containing 0.2 M NaCl

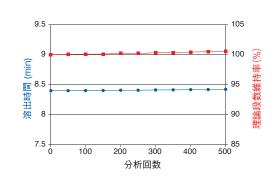
 $\begin{array}{lll} \mbox{Flow rate} & : 0.165 \mbox{ mL/min} \\ \mbox{Temperature} & : 25 \mbox{°C} \\ \mbox{Detection} & : \mbox{UV at 280 nm} \\ \mbox{Injection} & : 10 \mbox{ μL} \\ \end{array}$

Sample : Humanized monoclonal antibody (5 mg/mL)

YMC-SEC MABの充填剤3ロットにおける再現性を示しています。凝集体のピークやフラグメントなど、高い再現性が得られるため、抗体医薬品の純度試験などにも有効です。

高い耐久性





Column : YMC-SEC MAB (3 μ m, 25 nm)

300 X 4.6 mml.D.

Eluent : 0.1 M NaH₂PO₄-Na₂HPO₄ (pH 7.0)

containing 0.2 M NaCl rate : 0.33 mL/min

Flow rate : 0.33 mL/min
Temperature : 25°C
Detection : UV at 280 nm

Injection : 2 µL

Sample : Humanized monoclonal antibody (1 mg/mL)

YMC-SEC MABは、官能基導入法の最適化により優れた耐久性を有しています。モノクローナル抗体を繰り返し500回以上分析しても、理論段数や溶出時間の変化がなく、安定した分析が可能です。

YMC-Pack Diol

シリカ系のサイズ排除クロマトグラフィー用カラム

YMC-Pack Diolは、シリカゲル基材を用いたサイズ排除(ゲルろ過)クロマトグラフィー用カラムです。充填剤の細孔径が異なる4種類をラインナップしています。細孔径によって分子量の適用範囲が異なるため、使い分けや連結が有効です。

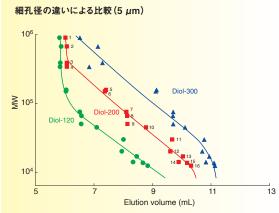
特長

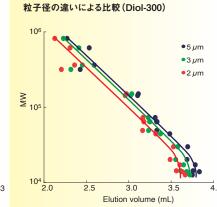
- ●耐圧性の高いシリカゲル基材を使用
- ●安価なサイズ排除クロマトグラフィー用カラム
- タンパク質および糖類の分子量測定に有効

ラインナップ

	基材	官能基	粒子径 (μm)	細孔径 (nm)	使用 pH範囲	特長・用途	
Diol-60		ジヒドロキシプロピル・		3. 5	6		分子量1万以下の化合物の分離に
Diol-120	シリカゲル			12	5-7.5	分子量1,000~10万程度の化合物の分離に	
Diol-200	ער פינוניכ		2. 3. 5	20	5-7.5	分子量5,000~30万程度の化合物の分離に	
Diol-300			2, 3, 5	30		分子量2万~100万程度の化合物の分離に	

タンパク質の較正曲線







Column : YMC-Pack Diol

300 X 8.0 mml.D.

 $Eluent \hspace{1.5cm} : 0.1 \hspace{1mm} M \hspace{1mm} KH_2PO_4\text{-}K_2HPO_4 \hspace{1mm} (pH \hspace{1mm} 7.0)$

containing 0.2 M NaCl

Flow rate : 0.5 mL/min
Temperature : 25°C
Detection : UV at 280 nm

Column : YMC-Pack Diol

300 X 4.6 mml.D.

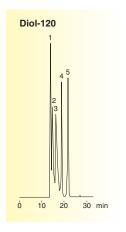
Eluent : 0.1 M KH₂PO₄-K₂HPO₄ (pH 7.0)

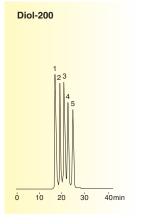
containing 0.2 M NaCl Flow rate : 0.165 mL/min

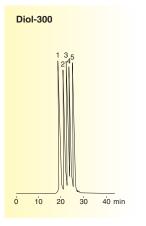
Temperature: 25°C
Detection: UV at 280 nm

分子量約1万から90万のタンパク質の較正曲線を示しています。充填剤の細孔径によって分子量の適用範囲が異なるため、Diol-120、Diol-200、Diol-300の使い分けが有効です。また、YMC-Pack Diolは、粒子径間でも較正曲線の傾きがほぼ同一であるため、UHPLC⇔HPLC間のメソッド移行が容易に行えます。

タンパク質分子量マーカーの分離







 1. Glutamate dehydrogenase
 MW

 2. Lactate dehydrogenase
 142,000

 3. Enolase
 67,000

 4. Adenylate kinase
 32,000

 5. Cytochrome c
 12,400

Column : YMC-Pack Diol (5 µm)

500 X 8.0 mml.D.

Eluent : $0.1 \text{ M KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4 \text{ (pH 7.0)}$

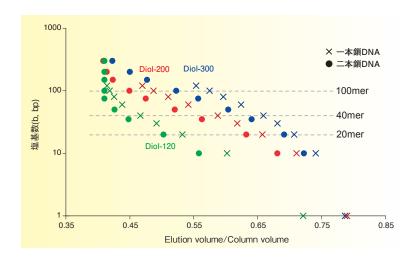
containing 0.2 M NaCl

Flow rate : 0.7 mL/min
Temperature : ambient
Detection : UV at 280 nm

分子量5,000から300,000程度のタンパク質の分離には

Diol-200が適しています。

オリゴ核酸の校正曲線



<u>一本鎖DNA</u> dT オリゴマー

塩基数(b):1(dTMP), 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 120

二本鎖DNA 市販DNA ladder

塩基対数(bp):10, 20, 35, 50, 75, 100, 150, 200, 300

Column : YMC-Pack Diol (5 μm) 300 X 4.6 mml.D.

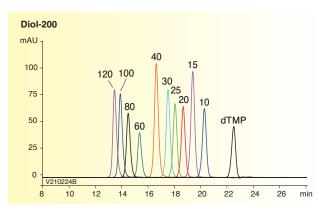
Eluent : 0.1 M KH₂PO₄-K₂HPO₄ (pH 7.0)

containing 0.2 M NaCl

Flow rate : 0.17 mL/min
Temperature : 25°C
Detection : UV at 260 nm

オリゴ核酸の較正曲線を示しています。オリゴ核酸のSEC分析においては、タンパク質と比較して同等~大きい細孔径の固定相が適しています。

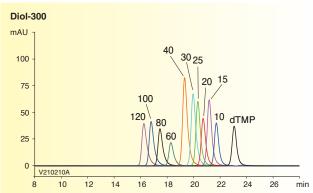
オリゴ核酸の分離(一本鎖DNA)



Column : YMC-Pack Diol (5 μ m), 300 X 4.6 mml.D.

Eluent : 0.1 M KH₂PO₄-K₂HPO₄ (pH 7.0) containing 0.2 M NaCl

Flow rate : 0.17 mL/min
Temperature : 25°C
Detection : UV at 260 nm
Sample : Poly (dT)



ー本鎖のDNAをDiol-200とDiol-300で分析しています。どちらのカラムでも鎖長の 長いオリゴ核酸が先に溶出しています。カラムの細孔径は、分離したい鎖長に合わせ て選択します。

(オーダリングインフォメーション

[YMC-SEC MAB]



分析カラム

粒子径 (μm)	カラムサイズ	製品番号	
	内径 X 長さ (mm)	SEC MAB	
		25 nm	
3	4.6 X 300	DLM25S03-3046WT	
	8.0 X 300	DLM25S03-3008WT	

[YMC-Pack Diol]



分析/分取カラム

粒子径 (μm)	カラムサイズ	製品番号				
	内径 X 長さ (mm)	Diol-60	Diol-120	Diol-200	Diol-300	
		6 nm	12 nm	20 nm	30 nm	
2	4.6 X 150	-	-	DL20S02-1546PTH	DL30S02-1546PTH	
2	4.6 X 300	-	-	DL20S02-3046PTH	DL30S02-3046PTH	
3	4.6 X 300	DL06S03-3046WT	DL12S03-3046WT	DL20S03-3046WT	DL30S03-3046WT	
	4.6 X 300	DL06S05-3046WT	DL12S05-3046WT	DL20S05-3046WT	DL30S05-3046WT	
5	8.0 X 300	DL06S05-3008WT	DL12S05-3008WT	DL20S05-3008WT	DL30S05-3008WT	
	8.0 X 500	DL06S05-5008WT	DL12S05-5008WT	DL20S05-5008WT	DL30S05-5008WT	
	20 X 300	DL06S05-3020WT	DL12S05-3020WT	DL20S05-3020WT	DL30S05-3020WT	
	20 X 500	DL06S05-5020WT	DL12S05-5020WT	DL20S05-5020WT	DL30S05-5020WT	

ガードカラム

粒子径 (μm) カラムサイズ 内径 X 長さ (mm)	カラムサイズ	製品番号				
	Diol-60	Diol-60 Diol-120 Diol-200		Diol-300		
	(mm)	6 nm	12 nm	20 nm	30 nm	
5	8.0 X 30	DL06S05-0308WTG	DL12S05-0308WTG	DL20S05-0308WTG	DL30S05-0308WTG	
5	20 X 50	DL06S05-0520WTG	DL12S05-0520WTG	DL20S05-0520WTG	DL30S05-0520WTG	