



# Next-Generation Separation Platform

for Biomolecules and Bioparticles



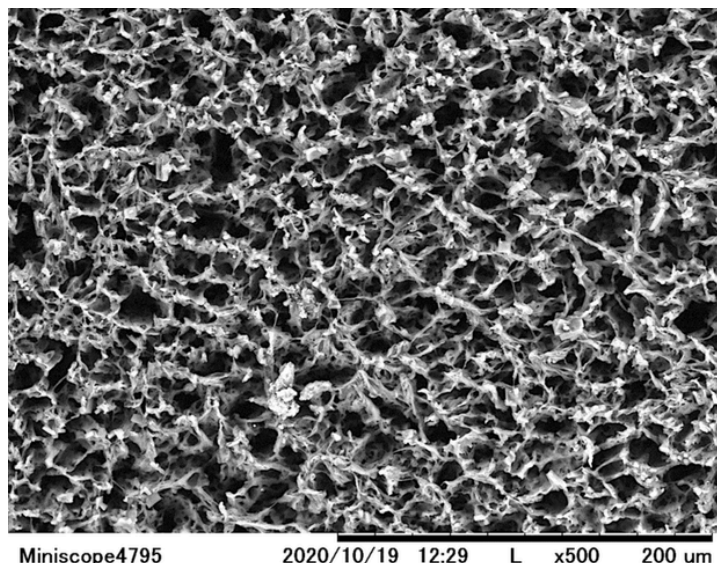
## SPM 技術アプリケーションガイド

HPLC | SPE | Filter

# 分離の常識を、素材から変える。

アフィニティ & バイオ分離用・高通水性メディア

## PEGM-スポンジモノリス



スポンジモノリス（SPM）とは、ポリエチレン（PE）等の熱可塑性樹脂と親水性ポアテンプレートとを熱融着・押出成形して調成される、**柔軟性と高い通水性を備えた新規ポリマー多孔体**です。バイオ分離に適した**数十ミクロンの貫通孔**を持ち、HPLCや固相抽出用カラム、フィルターなどへ自由な形状に容易に加工できます。

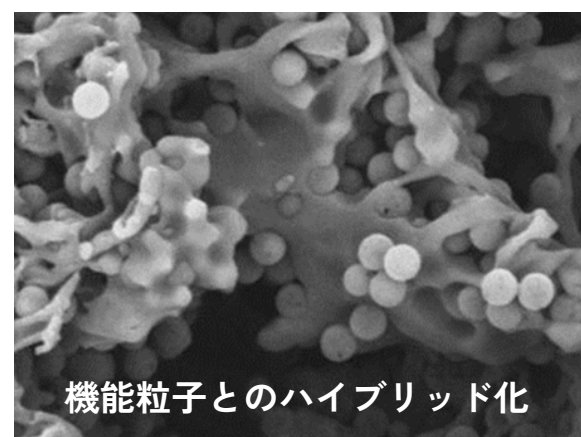


HPLCカラム

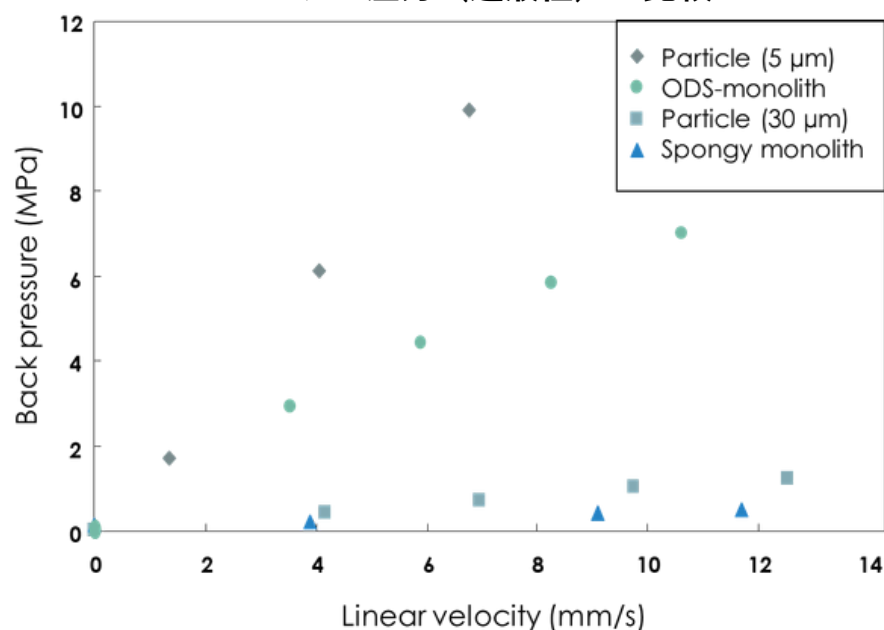


前処理・固相抽出（SPE）カラム

本技術の大きな大きな強みの一つは、優れた表面修飾性と機能性です。例えば、ポリグリシジルメタクリレートとの共重合体（PEGM-SPM）の基材表面には多数のエポキシ基が存在し、**任意のタンパク質分子を効率よく結合させたり**、種々の機能性官能基へ変換したりすることができます。さらに、カーボンやポリマー粒子、繊維等とのハイブリッド化にも対応しており、アフィニティ分離をはじめとする高度なバイオ分離メディアとして幅広く応用可能です。



カラム圧力（通液性）の比較



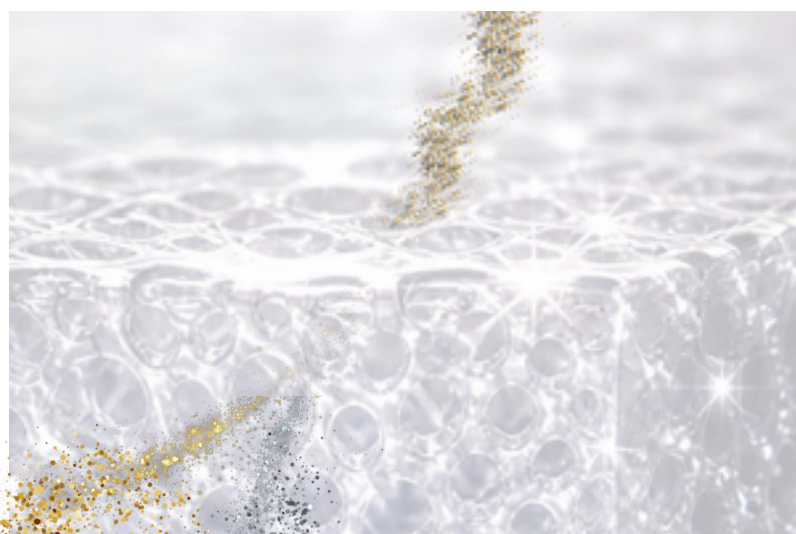
流体性能面では、大きな貫通孔により**極めて低いカラム圧力で高流量の移動相液が可能**であり（粒子径 30 μmの粒子充填カラムと比較して圧力約40%、通液性2.4倍）、既存分離剤では難しかったハイスループットな分離プラットフォームを容易に構築できます（理論段数は粒子充填カラムの約75%）。

LC conditions:

Column size, 100 mm×4.6 mm I.D.; mobile phase, MeCN/H<sub>2</sub>O=7/3; temperature, 40 °C

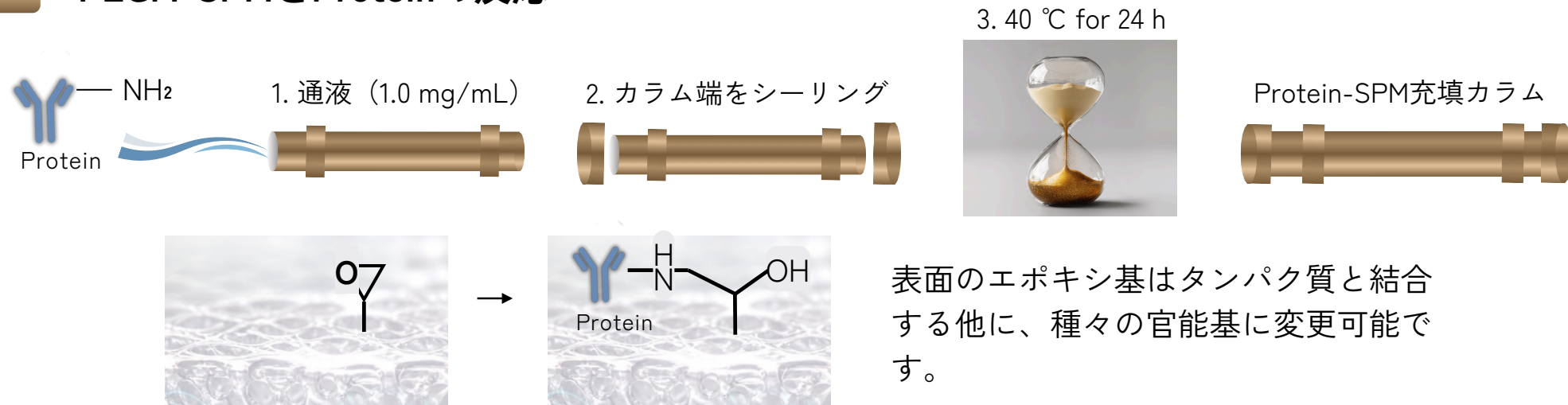
代表的なスポンジモノリスの物性値

|       |                                  |
|-------|----------------------------------|
| 気孔径   | 10 μm ※5～50 μm (max約500 μm) の貫通孔 |
| 表面積   | ～数 m <sup>2</sup> /g             |
| 密度    | 0.2 g/cm <sup>3</sup>            |
| 気孔率   | 71.6%                            |
| 硬度    | 30°（柔軟～高硬度）                      |
| 融点    | 85 °C                            |
| 破断伸び  | 274%                             |
| 湿潤膨張率 | 1.03%                            |
| 廃棄性   | 燃焼時に有毒ガスの発生なし                    |

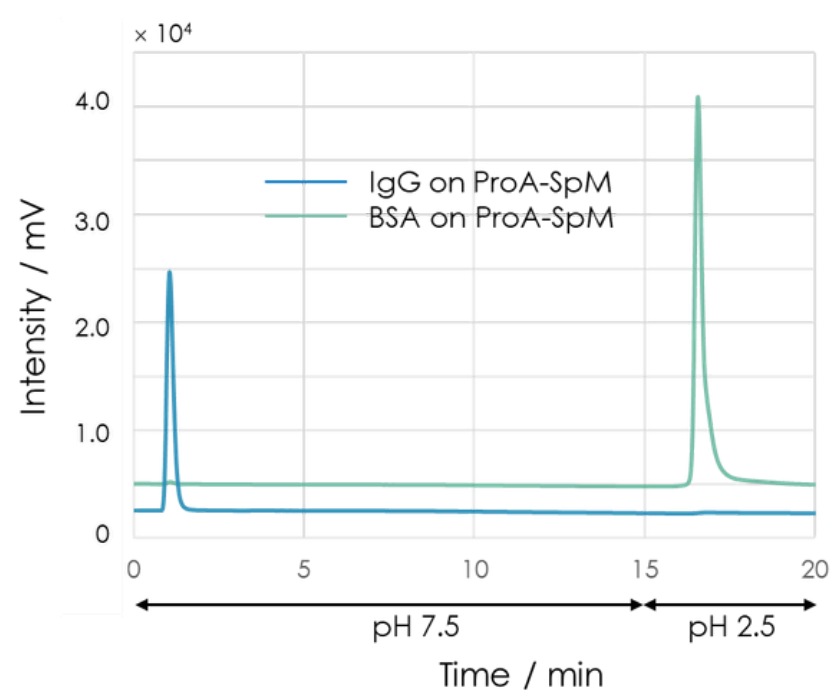


# バイオ分離のプラットフォームとしての利用

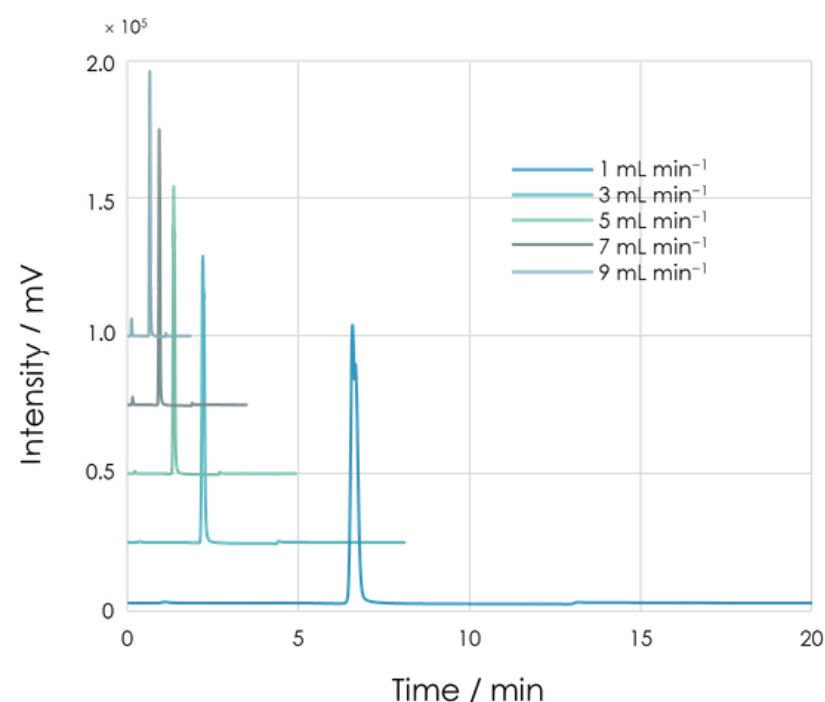
## 1 PEGM-SPMとProteinの反応



## 2 Protein A固定化スポンジモノリスカラムによる高速アフィニティー分離

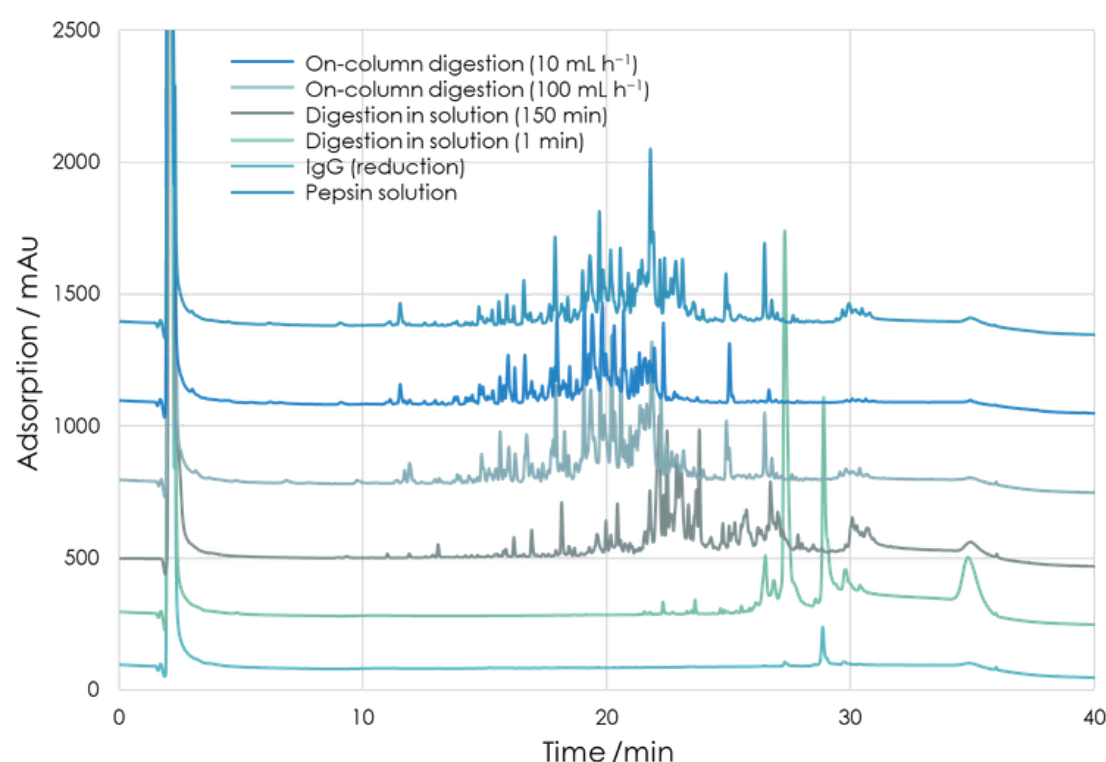


IgG: 免疫グロブリンG    BSA: 牛血清アルブミン  
移動相 A: 50 mM phosphate buffer +150 mM NaCl (pH7.5)  
移動相 B: 50 mM phosphate buffer -150 mM NaCl (pH2.5)



市販粒子カラムの3倍以上の流量で使用可能

## 3 Pepsin固定化-SPMカラムによりオンライン消化の例

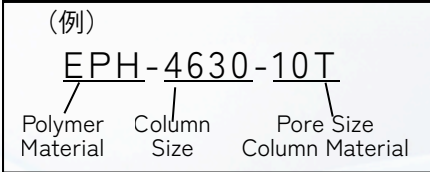


PEGM-SPMに消化酵素であるペプシンを固定化すると、HPLCのインジェクターから注入した抗体タンパクをカラム中でペプチド断片に消化することができます。モノリスの大きな貫通孔により、溶液中で消化を行った場合に相当するペプチド断片が検出されています。

SPM HPLCカラム

(密度：0.2 g / cm<sup>3</sup>、貫通孔サイズ：10 μm)

| 材料         | PEGM<br>含エポキシ | PEGM-OH2<br>含ジオール | EVA<br>疎水性エステル | EVA-OH<br>含ヒドロキシ |
|------------|---------------|-------------------|----------------|------------------|
| 内径×長さ (mm) | SUSカラム        |                   |                |                  |
| 4.6 × 30   | EP-4630-10S   | EPH-4630-10S      | EV-4630-10S    | EVH-4630-10S     |
|            | 38,000円       | 38,000円           | 38,000円        | 38,000円          |
| 4.6 × 50   | EP-4650-10S   | EPH-4650-10S      | EV-4650-10S    | EVH-4650-10S     |
|            | 38,000円       | 38,000円           | 38,000円        | 38,000円          |
| 4.6 × 100  | EP-46100-10S  | EPH-46100-10S     | EV-46100-10S   | EVH-46100-10S    |
|            | 43,000円       | 43,000円           | 43,000円        | 43,000円          |
| 内径×長さ (mm) | PEEKカラム       |                   |                |                  |
| 4.6 × 30   | EP-4630-10P   | EPH-4630-10P      | EV-4630-10P    | EVH-4630-10P     |
|            | 45,000円       | 45,000円           | 45,000円        | 45,000円          |
| 4.6 × 50   | EP-4650-10P   | EPH-4650-10P      | EV-4650-10P    | EVH-4650-10P     |
|            | 45,000円       | 45,000円           | 45,000円        | 45,000円          |
| 4.6 × 100  | EP-46100-10P  | EPH-46100-10P     | EV-46100-10P   | EVH-46100-10P    |
|            | 55,000円       | 55,000円           | 55,000円        | 55,000円          |



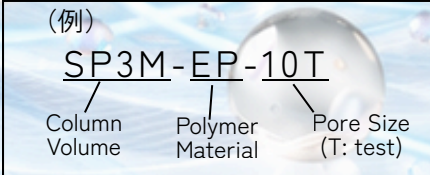
SPM固相抽出カートリッジカラム

(密度：0.2 g/cm<sup>3</sup>、貫通孔サイズ：10 μm)

| 材料 | PEGM<br>含エポキシ | EVA<br>疎水性エステル |
|----|---------------|----------------|
| 個数 | シリンジタイプ・3 mL  |                |
| 10 | SP3M-EP-10T   | SP3M-EV-10T    |
|    | 12,000円       | 12,000円        |
| 50 | SP3M-EP-10    | SP3M-EV-10     |
|    | 45,000円       | 45,000円        |

- 【製品仕様・カスタムオーダーについて】
- ・ **HPLCカラム**：密度 0.2 / 0.3 g/cm<sup>3</sup>、貫通孔サイズ 10 / 30 / 60 μmから選択可能
  - ・ **SPEカートリッジ**：容量 1 mL / 3 mL、貫通孔サイズ 10/ 60 μmから選択可能

※上記以外の使用や特注サイズ（カスタムオーダー）についても承ります。お気軽にご相談ください。



タンパク固定化操作の例

Protein Aは、黄色ブドウ球菌の細胞壁に存在する46.7 kDaのタンパク質であり、免疫グロブリン（特にIgG）に特異的に結合します。また、Protein Aには最大4つのIgGとのアフィニティー結合サイトが存在しており、4 M尿素や6 Mグアニジン塩酸といった変性剤にさらされた後でも、その活性を保持することが知られています。

ref. Kubota, K.; Kubo, T.; Tanigawa, T.; Naito, T.; Otsuka, K. Sci. Rep. 2017: 178

Protocol

Protein A固定化・アフィニティーカラム

試薬：水、アセトニトリル、リン酸緩衝液、Protein A

- ① Protein A溶液（1 mg/mL）を10 mM phosphate buffer (pH7) 1 mLに溶解する。
- ② スポンジモノリス充填カラムを各5 mLのアセトニトリル、水の順で洗浄。
- ③ 調整したProtein A（1 mg/mL溶液）を半量ずつ、カラムの送液方向を変えて通液する。
- ④ カラム両端をシーリングし、37 ℃のオープンで24 h静置。
- ⑤ カラムを水で1 h洗浄する。（HPLCポンプで1 mL/min、60分送液）

※カラムを保存する場合はカラム内を水で置換後、冷蔵する。  
密栓・冷蔵保管したカラムは1年後も使用可能であった。

