

# Heparin HyperD<sup>®</sup> M

アフィニティー・クロマトグラフィー樹脂



## 製品情報

Heparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂は、凝固因子、成長因子、リポタンパク質などのヘパリンに結合する生体分子の精製に適した、技術的に最も進んだ、高速で大容量のアフィニティー分取用樹脂です。

この樹脂は、高流速で高い結合容量を提供します。

Heparin HyperD<sup>®</sup> M独自の複合構造は、高度な直線流体速度で優れた動的容量を提供するために採用されました。

HyperD<sup>®</sup>樹脂は、ハイドロゲルの充填孔に結合したヘパリンを含む多孔性硬質ミネラル・ビーズで構成されています。

Heparin HyperD<sup>®</sup> Mは、平均粒径が80 µmで、ATIIIの分取スケール精製で使用されます。樹脂は、mlから100リットル超まで、さまざまなサイズのカラムに充填でき、低背圧、高流速で動作します。

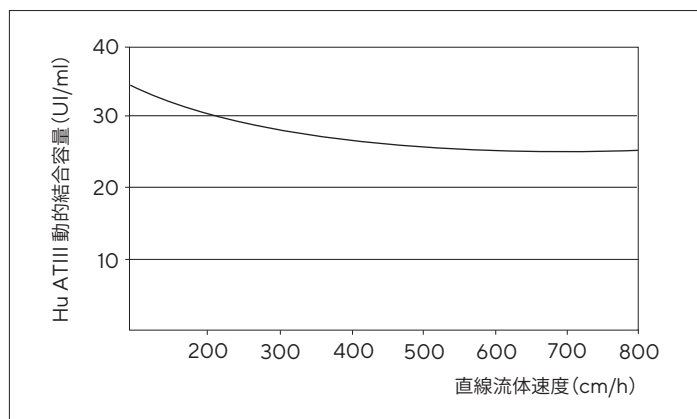


図1: 動的結合容量対直線流体速度。

カラム寸法: 0.46 cm I.D. x 10 cm、サンプル: hu ATIII (72.5 UI/ml)、平衡化バッファー: 0.3 M NaCl含有の20 mM Tris-HCl (pH 7.4)、溶出バッファー: 2 M NaCl含有の20 mM Tris-HC (pH 7.4)。

表1. Heparin HyperD<sup>®</sup> Mの主な特性。

|                           |                    |
|---------------------------|--------------------|
| 粒径                        | 80 μm (平均)         |
| ヒトATIIIの動的結合容量 (600 cm/h) | > 25 mg/ml*        |
| リガンド                      | ブタ・ヘパリン            |
| 推奨動作pH範囲                  | 3 ~ 13             |
| pHとイオン強度に起因する体積変化         | 非圧縮性               |
| 耐圧性                       | 70 bar (1,000 psi) |

\*72.5 UI/mlのhu ATIIIを使用し0.3 M NaCl含有の20 mM Tris-HCl (pH 7.4) で測定された容量。流速600 cm/h、ベッド高10 cm、2 M NaCl含有の20 mM Tris-HCl (pH 7.4) を用いて溶出。

Heparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂の主なメリット:

- ヘパリン樹脂の密度が高いため迅速な充填が可能で、数分で定常化。
- HyperD<sup>®</sup>樹脂は非常に硬く、圧力の増加、樹脂の縮小や膨張なく高流速で使用可能。
- ヘパリン分子と樹脂の安定した化学結合により、ヘパリン漏出は最小限。

Heparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂は、静菌剤として20%エタノール含有の1 M塩化ナトリウム内に懸濁された、すぐに使えるラボパックとして入手可能です。必要に応じて、より大量にバルクで入手することもできます。

## 容量

Heparin HyperD<sup>®</sup> Mは、極めて高い直線流板速度でも、高い結合容量を維持します。一般に、医薬品グレードのATIIIの量産向けに大規模で使用されます。量産スケール・カラム (> 100 L) は、最低の背圧で容量を維持しながら、高い直線流体速度 (> 200 cm/h) で動作できます (図2)。その容量は、10 cmベッド高で600 cm/hでも、25 UI/mlを超えます (図1)。

## 安定性

非圧縮性HyperD<sup>®</sup>母材は、ベッド崩壊のリスクなしで、超高流速に耐えることができます。より高速な精製でユーザーの時間を節約し、精製されたタンパク質の生物学的完全性を維持します。Heparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂の機械的特性は、広範な流体速度にわたって一定です。高い直線流体速度でも圧力低下は最小限のため、任意体積を直接に予測できる規模拡大を保証します (図2参照)。

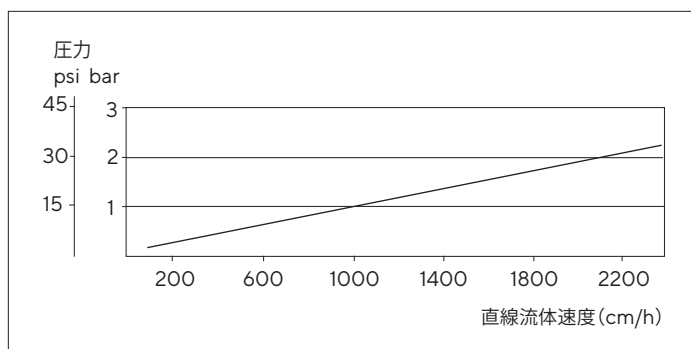


図2: 圧力対直線流体速度。

カラム: 0.46 cm I.D. x 10 cm、バッファー: 0.3 M NaCl含有の20 mM Tris-HCl (pH 7.4)。

## 機械的および化学的安定性

pH安定性は遊離型の可溶性ヘパリンと同じで、3 ~ 13の間です。解離剤と洗浄剤は、通常はヘパリン樹脂に影響しません。ウシATIIIまたはHu ATIIIでのテスト時に、8 M尿素、6 Mグアニジン塩酸塩および1%トリトンX-100でHeparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂を処理しても何の変化も起こりませんでした。Heparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂は、0.01 ~ 0.1 M濃度の水酸化ナトリウムで洗浄できます。

## バリデーション

Heparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂の製造に使用されるヘパリンは、北米産で、ブタ腸粘膜に由来します。ヘパリンは、FDAのGood Laboratory PracticesおよびGood Manufacturing Practices規制の該当要件に準拠して生産されます。

規制要件をサポートして、臨床使用承認の治療法を生み出せるように、バリデーション・ファイルを法人顧客に提供することができます。

## アプリケーション

ヘパリンは、その抗凝血性と浄化作用で知られるムコ多糖類です。

ヘパリンは基本的には等モル量のグルコサミンとグルクロン酸で構成され、 $\alpha$ -1,4グリコシド結合によって交互にリンクされています。

一定数の水酸基、特にグルコサミンのC-6水酸基が硫酸でエステル化されます。グルコサミンのC-3およびグルクロン酸のC-2を含むその他の基も硫酸化されます。ヘパリンの主な特徴は、硫酸基に結合された多数のアミノ基を含んでいる点です。硫酸基は酸性媒体で極めて不安定です。

この分子には、ガラクトースやキシロースなどの他の糖と、陽性のニンヒドリン反応を明らかにするセリンなどのアミノ酸が少量含まれます。

その組成と生化学的な役割の結果として、ヘパリンには多数のタンパク質、酵素、一般にポリカチオン性の有機化合物と結合する特性があります。また、アルカロイド、抗生物質、染色剤、ホルモンとも結合します。

ネイティブ・ヘパリンのさまざまなタイプの相互作用と関連するHeparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂には、多数の分野でのアプリケーションがあります。これらの相互作用は、特定の凝固因子のように固有の場合もあれば、より複雑なイオン性相互作用に起因する場合もあります。

Heparin HyperD<sup>®</sup> M樹脂では、7つの主要なタンパク質のグループを精製できます。

- ATIII、第IX因子、第VII因子、第XI因子、第XII因子、第XIIaなどの凝固因子。
- 血漿からのATIIIおよびトランスジェニック動物からのATIII。
- リポタンパク質リパーゼは、脂質代謝に関与する酵素です。ヘパリンとイオン結合性の複合体を形成し、固定化したヘパリンがそれらの精製に適した手段を提供します。血清、哺乳類の心臓、脂肪組織、牛乳からのリポタンパク質リパーゼの精製については多数のレポートがあります。
- リポタンパク質 (LDL、VLDL、VLDLアポタンパク質、HDL) は、2価陽イオンが存在すると、ヘパリンとともに不溶性複合体を形成する場合があります。この特性は、固定化したヘパリンでの血清リポタンパク質の分離に利用されます (例えば、酵素学的分析での干渉を減らすための血清からのリポタンパク質の除去)。
- 成長ホルモン。
- 成長因子：FGF、ECGF。
- DNAおよびRNA関連酵素。ヘパリンはDNAおよびRNAポリメラーゼの阻害物質であり、多数のDNAおよびRNA依存性酵素と相互作用します。これらの特性は、さまざまな酵素 (ポリメラーゼ、制限エンドヌクレアーゼなど) の精製で使用されます。
- アデノウイルスなどウイルスの精製。

- その他のアプリケーション：固定化されたヘパリンは、その他のさまざまな酵素 (コラゲナーゼ、 $\alpha$ -L-イズロニダーゼ、ヒアルロニダーゼ、リゾチーム) や、フィブロネクチン、フィブロネクチン断片、ホルモン受容体の精製に使用されています。

## 発注情報

| 製品                            | カタログ番号    | サイズ    |
|-------------------------------|-----------|--------|
| Heparin HyperD <sup>®</sup> M | 20029-039 | 25 mL  |
|                               | 20029-021 | 100 mL |
|                               | 20029-013 | 1 L    |
|                               | 20029-054 | 10 L   |

## 参考文献

1. Lebing, W.R.他、Vox Sang 67 (1994) 117。
2. Josic, D., Bal, F., Schwinn, H., J. Chromatogr. 632 (1993) 1。
3. Kisiel, W., Davie, E.W., Biochemistry 14 (1975) 4928。
4. Lindon, J.他、J. Lab. Clin. Med. 253 (1978) 5946。
5. Augustin, J., Freeze, H., J. Biol., Chem. 253 (1978) 2912。
6. Ashby, P.他、Biochem. J. 171 (1978) 305。
7. Bengtson, G., Olivecrona, T., J. Biochem. 167 (1977) 109。
8. Pan, Y.T.他、Arch. Biochem. Biophys. 189 (1978) 231。
9. Huet, J.他、Meth. Enzymol. 273 Part A, 249。
10. Tim Edmunds他、Blood, Vol. 91 No. 12 (June 15), 1998: pp. 4561-4571  
Transgenically Produced Human Antithrombin: Structural and Functional Comparison to Human Plasma-Derived Antithrombin

# お問い合わせ先

詳細については、[www.sartorius.com](http://www.sartorius.com)をご覧ください。

ザルトリウス・ステディム・ジャパン株式会社

営業部

Phone : 03 6478 5201 | Fax : 03 6478 5495

[www.sartorius.com](http://www.sartorius.com)

〒140-0001 東京都品川区北品川1-8-11 Daiwa品川Northビル4階

※製品仕様は予告なく変更される場合があります。