

取扱説明書

アフィニティークロマトグラフィー充填剤 セルファイン フォスフェイト

概要

セルファインフォスフェイトはタンパクキナーゼ、制限酵素、ヌクレアーゼ、ポリメラーゼなどの核酸関連タンパク質などを精製するアフィニティークロマトグラフィー充填剤です。真球状のセルロース粒子にリン酸エステル基がリガンドとして修飾されています。従来の市販リン酸セルロース粒子と比較して、セルファイン フォスフェイトは耐圧性が高く、高流速で通液することができます。これはセルファイン フォスフェイトが真球状の粒子であることに起因しています（市販のリン酸セルロース粒子は繊維状）。

物理的・化学的特長

ベース担体	セルロース粒子
粒子形状	真球状の微粒子
イオン交換容量 (meq /ml)	0.3 - 0.8
リゾチーム吸着量 (mg/ml)	≥ 20
排除限界分子量 (kD)	100 (PEG)
操作 pH 条件	5 - 12
pH 安定性	5 - 12
操作圧力	< 2 bar (29 psi)
保存液	20 % EtOH 水溶液

カラム充填方法

1. カラム充填前に自然落下ベッド高さを測定する（50mL のメスシリンダーを用いて、重量と自然落下高さの関係を測定する）。
2. 適切なバッファーで懸濁した 40~60%濃度のスラリーを用意する（可能であればバッファーは脱気しておくこと）。
3. カラム底部のエンドフィッティングを取り付けた後、注意深くスラリーをカラムに流し込む。必要に応じてリザーバーを設置する。
4. カラム内の空気を除去するためカラム上部を開放し、可動栓フィルターをベッド上部まで挿入していく。
5. カラム底部のエンドフィッティングを開き、バッファーを使用時の 20~100 %高い流速で通液する。
6. カラム体積が安定してきたら、カラム底部のエンドフィッティングを閉じる。その後、カラム上部を開放し、可動栓をベッド上部まで下げていく。
7. サンプルをロードする前に 10 CV（カラム体積）の吸着バッファーでカラムを平衡化する。

操作ガイドライン

一般的な操作

1. 吸着バッファーでカラムを平衡化する。
2. サンプルをロードする。
3. 未吸着の夾雑物を除去するために数カラム体積分の吸着バッファーで洗浄する。
4. 溶出バッファーで吸着したサンプルを溶出する。

推奨バッファー

吸着バッファー：10～50mM リン酸ナトリウムバッファー、pH 7。トリスや酢酸などのバッファーも使用できる。一般的に吸着性は pH やイオン強度の影響を受ける。非特異的に吸着している夾雑物を除去する目的にイオン強度を高くする場合がある。溶出性を向上させるために、ノニオン性の界面活性剤（Tween®20、Triton® X など）を加えることがある。

溶出バッファー：吸着バッファーに 1～2 M NaCl または KCl を加える。溶出の塩濃度を決める際にはグラジエント溶出によって最適な塩濃度を決める。

サンプルの準備とサンプルロード

サンプル濃度は 1 - 20 mg/ml になるように吸着バッファーで調製する。サンプルに存在する不溶物を遠心分離かフィルターで取り除く。必要であればサンプルを透析、脱塩フィルター、脱塩カラムなどで脱塩して、目的のイオン強度になるように調製する。

操作流速

最適な流速は 50 - 250 cm/h である。

化学的・物理的安定性

バッファーは pH 5～12 で調製すること。2～30°Cで操作すること。

化学安定性および物理的安定性

セルファイン フォスフェイトの再生や脱パイロジェンは高イオン強度のバッファー（2.0～3.0 M NaCl）を用いる。不十分な場合は 3～10 カラム体積分の 0.2 N NaOH で洗浄後に 2.0～3.0 M NaCl で pH が 9 以下になるまで洗浄する。次いで吸着バッファーで平衡化する。

保存方法

2 週間以内でバルクおよびカラムの状態 で 2～4°C で 1M NaCl での保存が可能。長期保存する場合は同一の条件で保存できるが、0.1%ホルマリン、0.05% クロロトン、0.02% アジ化ナトリウムなど防腐剤を添加すること。2 - 8°Cで保存し、凍結させないこと。

参考文献

Nucleic Acids Research, 2006, Vol. 00, No. 00 1-8

Rachel Macmaster, Svetlana Sedelnikova, Patrick J. Baker, Edward L. Bolt1, Robert G. Lloyd1 and John B. Rafferty

RusA Holliday junction resolvase: DNA complex structure—insights into selectivity and specificity

ご注文情報(カタログ No.)

製品名	Pack Size						
	ミニカラム		10ml	50ml	500ml	5L	10L
	1ml x 5	5ml x 1					
セルファイン フォスフェイト	19551	19515	19524	19545	19546	684 987 330	684 987 335

JNC 株式会社

ライフケミカル事業部

東京都千代田区大手町二丁目2番1号

TEL : 03-3243-6150 Fax : 3-3243-6219

eメール: cellufine@jnc-corp.co.jp

<http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>