

セルファイン サルフェイトは、多孔性球状セルロース粒子を直接硫酸化した、ヘパリノイドゲルでウイルス、凝固系因子などの精製に使用されるアフィニティークロマトグラフィーメディアです。

材料

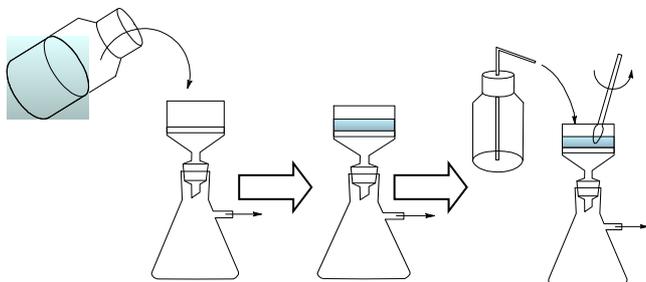
セルファイン サルフェイト、*中低圧カラム、ポンプ吸引ビン

ガラスフィルターor プフナーロート、充填バッファー

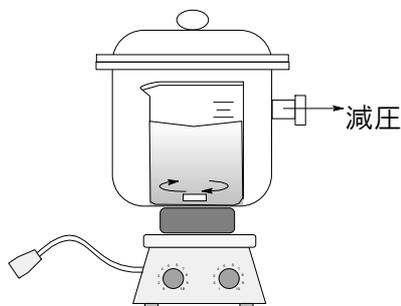
* 中低圧カラムは、Millipore 社ヴァンテージカラム、他 Amersham , BIO-RAD, EYELA 社製カラムなどが使用できます。

* 充填バッファーは、吸着バッファーを用いる事を推奨します。

ゲルスラリーの調整



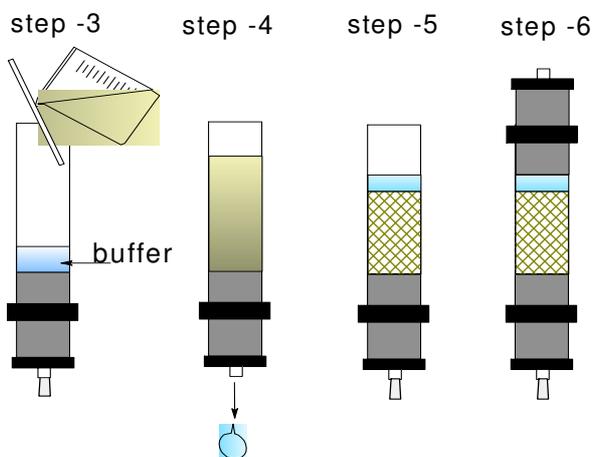
- ・ 使用する材料を室温にする。
- ・ 製品のボトルを数回振り、スラリーを均一にする。
- ・ 吸引ろ過により保存剤 (20%EtOH) を吸引除去する。
- ・ 純水で EtOH 臭が無くなるまでろ過洗浄する。
- ・ ビーカーに、脱水ゲルと充填バッファーを加え、良く攪拌した後、吸引ろ過をする (2~3回)。(充填バッファーは脱水ゲル容量のおおよそ 1~1.5 倍使用する)
- ・ ビーカーに、脱水ゲルと充填バッファーを加えおおよそ 40%~60% のスラリーを調製し、減圧下で 30 分~40 分脱気する。



※脱気する際にマグネチックスターラーで緩やかに攪拌するとより効果的に脱気できます。

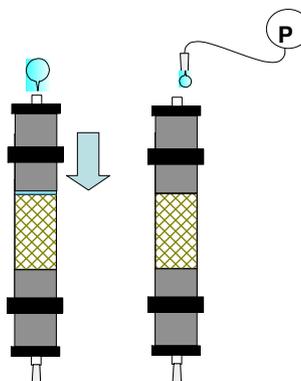
カラムの充填

1. カラムの組立て、操作方はカラムの取扱説明書を参照ください。
2. カラムの下に栓をして少量の充填バッファーを加えておく。(カラムのゲルサポートは脱気しておく)
3. 脱気したゲルスラリーを良くかき混ぜて均一にして、カラム内へ注ぎ込む
4. カラム下部のよりバッファーを流出させて、ゲルベットを形成させる。
5. 目的の高さよりやや高い (1cm-2cm) までゲルベットを形成させ、更にその上部にバッファーを 1cm-2cm になるように加えて、カラム下部のプラグをする
6. カラム上部のゲルサポートをセットする。



カラムの平衡化

1. 充填したカラムをポンプにつなぎ、充填バッファーを流してゲルベットを安定化させます。送液圧力はおよそ 1-2MPa 以下で行います。
2. カラムベッドが安定したら (高さが安定したら) カラム高さを調整する。多い場合は駒込ピペットで取り除く、少ない場合はゲルを加える。
3. 希望のカラム高さになったら、ベットサポートをゲルベット上面に密着させる。



- ・ カラム下部のプラグをする
- ・ 上部サポーターを徐々に下ろす。(カラム上部出口より液がでてくる)
- ・ 液の満たされたラインをカラム上部に接続する。

4. 平衡化バッファーをゲルベッド体積の5倍程度流す。

※平衡化が達成されれば、カラム溶出液のpHとイオン強度は、充填バッファーと同じになります。

サンプルの調整

添加するサンプルのイオン強度は充填バッファー（結合バッファー）と同じかそれ以下になるように調整します。結合バッファーに対してサンプルを透析するか、より簡単にするためには、セルファイン GH25 によるバッファー交換ゲルろ過によってサンプルを調整することができます。

サンプルの中の不溶物は、カラムへ添加する前に、メンブランフィルターで除去しておきます。

流速

サンプルの結合と溶出の際の流速は、分離能に影響します。通常、流速が低い方が高分離になります。

吸着

セルファイン サルフェイトへの目的タンパク質の吸着は、通常pH7付近の0.15mol/L NaClを含む10mMリン酸バッファーが多用されています。

溶出

セルファイン サルフェイトからの目的サンプルの溶出には、NaClの直線的なグラジエントが一般的に採用されている。グラジエントはカラム体積の5倍から10倍の容積で、吸着バッファーに含まれるNaCl濃度を最終的に0.5mol/L程度まで増加させる。目的サンプルが溶出されない場合には、更に高濃度のNaClを流すか、バッファーのpHを変えて見る。

NaClの直線的グラジエントのほかにも、NaCl濃度のステップワイズ溶出やpHグラジエント、pHステップワイズによる溶出もできます。

再生

高イオン強度のバッファー（1-2mol/L NaCl含有バッファー）を用いて溶出液のUVをモニターし十分値が低く、変化がなくなるまで洗浄する。その後、再び吸着バッファーで平衡化する。

Cleaning-in-place (CIP)

再生と同じ操作で、イオンの吸着した物質を洗浄したのち0.1mol/LのNaOHをカラム体積の5倍程度流す。その後、吸着バッファーで平衡化する。

保存

開封後のセルファイン サルフェイトを保存する場合は、良く洗浄した後に、20%エタノールに液を置換して、2～8℃で保存されることを推奨いたします。

安定性

中性付近の緩衝液中で120℃、30分のオートクレーブが可能。使用するpHは3～12の範囲が推奨される。特に酸性側では硫酸エステルが分解される可能性がある。

表 セルファイン サルフェイトの安定性

* Lysozymeの吸着容量

| Solution | Temp. (°C) | Time (day) | *Adsorption Capacity (%) | **Sulfur Content (%) |
|-----------------------|------------|------------|--------------------------|----------------------|
| 1mol/L NaCl (control) | 4 | 7 | 100 | 100 |
| pH1.0 | 4 | 7 | 103 | 78 |
| pH1.0 | 30 | 2 | 75 | 48 |
| pH13.0 | 4 | 7 | 96 | 100 |
| pH13.0 | 30 | 2 | 105 | 107 |
| 6mol/L urea | 4 | 7 | 103 | 100 |
| 6mol/L guanidin-HCl | 4 | 7 | 103 | 100 |

* pH1.0=0.13mol/L HCl pH13=0.13mol/L NaOH

セルファイン サルフェイト製品案内

| 品名 | 容量 | Code No. |
|------------------------|---------|-------------|
| ミニカラム セルファイン サルフェイト | 5 x 1ml | 19845-51 |
| ミニカラム セルファイン サルフェイト | 1 x 5ml | 19845-15 |
| セルファイン サルフェイト | 10ml | 676 943 324 |
| セルファイン サルフェイト | 50ml | 19845 |
| セルファイン サルフェイト | 500ml | 19846 |
| セルファイン サルフェイト | 5L | 19847 |
| セルファイン サルフェイト | 10L | 19849 |

JNC株式会社

ライフケミカル事業部
 〒100-8105 東京都大手町二丁目2番1号
 電話 03-3243-6150 FAX 03-3243-6219
 URL: <http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine>
 e-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp