

アフィニティークロマトグラフィー充填剤
(エンドトキシン除去)

セルファイン ET クリーン

テクニカルデータシート



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 メールアドレス: cellufine@jnc-corp.co.jp

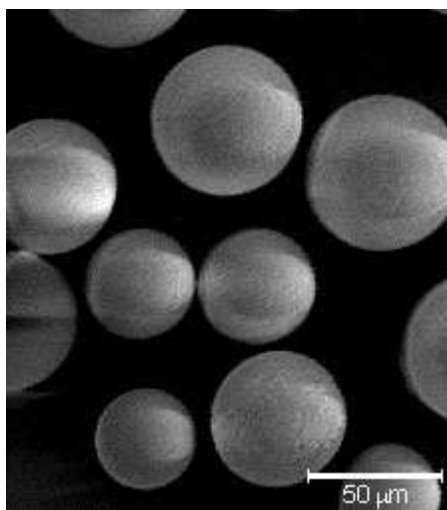
<http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>

エンドトキシンを除去する新しいクロマトグラフィー充填剤

セルファイン ET クリーンはセルロース粒子に ϵ ポリリジンを固定化したクロマトグラフィー充填剤です。サンプル溶液に存在するエンドトキシンを充填剤に結合させることでサンプルからのエンドトキシン除去が可能です。 ϵ ポリリジンは約 30 分子のリジンからなる *Streptomyces albulus* 由来の発酵産物です。

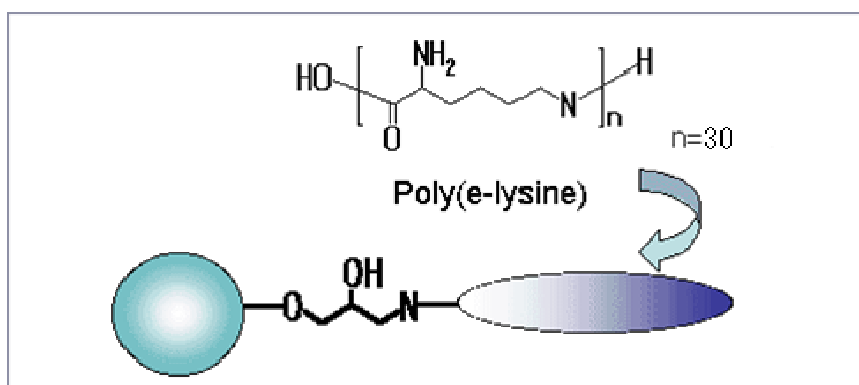
セルファイン ET クリーンは熊本大学と JNC 株式会社の共同研究によって開発されました。エポキシ基固定化セルロース粒子に ϵ ポリリジンを共有結合で固定化しています。セルファイン ET クリーンは定置洗浄で使用する化学薬品に対して安定です。例えば、0.2M NaOH や 2M 塩化ナトリウムは安定的に定置洗浄に使用することができます。

セルファイン ET クリーンはグラム陰性菌などの発酵産物から選択的にエンドトキシンを除去することができます。イオン強度 $\mu = 0.02\text{--}1.0$ の範囲内でエンドトキシンを除去できます。また温度 $0\sim 250^\circ$ の範囲で除去率に変化が見られないこともわかっています。



セルファイン ET クリーン S の SEM 写真

化学構造



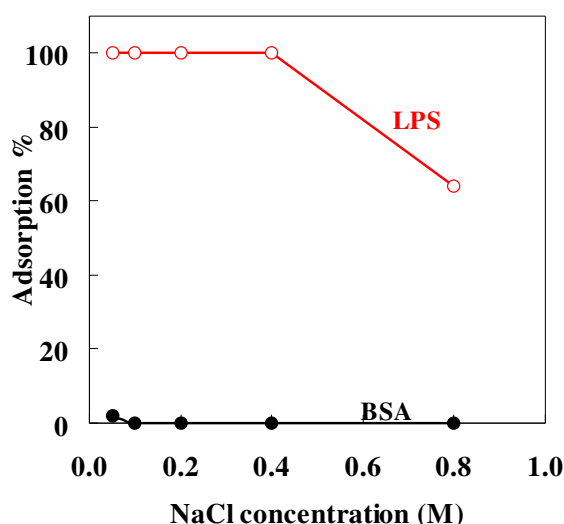
製品の特長

製品名	保存液	粒子径	細孔サイズ*
セルファイン ET クリーン S	20 %エタノール水溶液中 にスラリーとして保存	40-130 μm	M_{lim} 2000
セルファイン ET クリーン L			$>M_{lim}$ 2×10^6

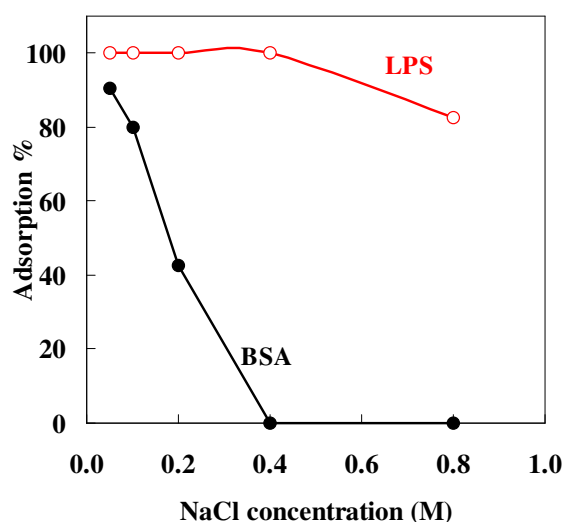
*粒子の細孔サイズ（排除限界分子量: M_{lim} ）はサイズ排除クロマトグラフィーで測定。すなわち分子量の異なるプルランとマルトースをカラムに流して M_{lim} を測定した。

ウシ血清アルブミン（BSA）からのエンドトキシン（LPS）の選択性

a) ET clean-S



b) ET clean-L



エンドトキシン吸着試験はパッチ法による吸着で評価した。湿潤ゲル0.2gを2mLのサンプル溶液（BSA: 500 $\mu\text{g/ml}$, *E. coli* 0111: B4 LPS: 100 ng/ml, pH 7.0, NaCl 濃度: mol/L = 0.05-0.8）に加えて上清を回収して評価した。

様々なタンパク質からのエンドトキシンの除去性能

タンパク質溶液		セルファイン ET クリーン S		セルファイン ET クリーン L	
種類	吸着前の E T 量 (pg/ml)	(NaCl = 0.05M, pH 7.0)		(NaCl = 0.4M, pH 7.0)	
		除去後の E T 量 (pg/ml)	タンパク質回収率 (%)	除去後の E T 量 (pg/ml)	タンパク質回収率 (%)
オボアルブミン pI 4.6	28,000	81	99	<10	95
BSA pI 4.9	32,000	45	99	<10	97
ミオグロビン pI 6.8	4,500	18	99	<10	98
γ -グロブリン pI 7.4	5,600	20	99	<10	97
シトクロム C pI 10.6	1,500	15	99	<10	98

アプリケーションデータ

エンドトキシン除去の実例紹介

ETクリーンLによるBSAからのエンドトキシン除去

カラム条件

カラム : 1 X 1.1 cm (I.D.) (1.1ml)

流速 : 0.17 ml / min (10cm / h)

吸着バッファー : 50 mM PB, pH 7 + 0.15 mol NaCl aq

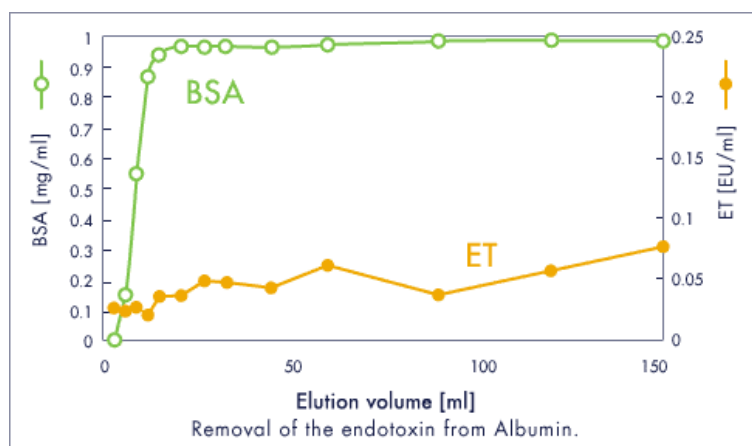
分析方法

タンパク質濃度 Abs. 280 nm

タンパク質濃度 Abs. 280 nm

ロードサンプル (150 ml)

BSA 1 mg/ml + エンドトキシン 100 EU/ml



ETクリーンLによるリゾチームからのエンドトキシン除去

カラム条件

カラム : 10 x 0.9 cm (I.D.) (9.6 ml)

流速 : 0.5 ml / min (47 cm / h)

吸着バッファー : 1 mM Tris-HCl, pH 7.3

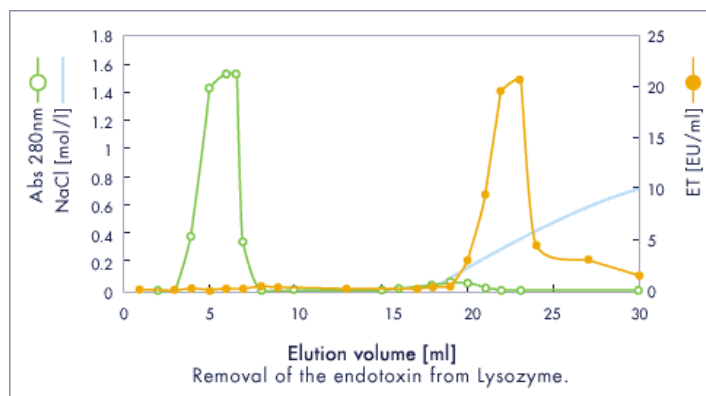
溶出グラジエント 0 → 1.0 mol / l NaCl aq.

分析方法

タンパク質濃度 Abs. 280 nm

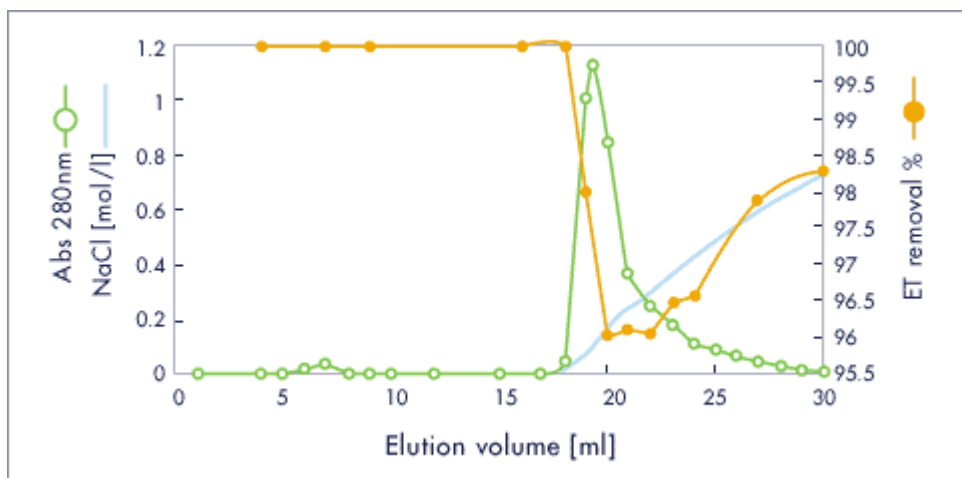
タンパク質濃度 Abs. 280 nm

ロードサンプル (1ml) : 14 mg / ml



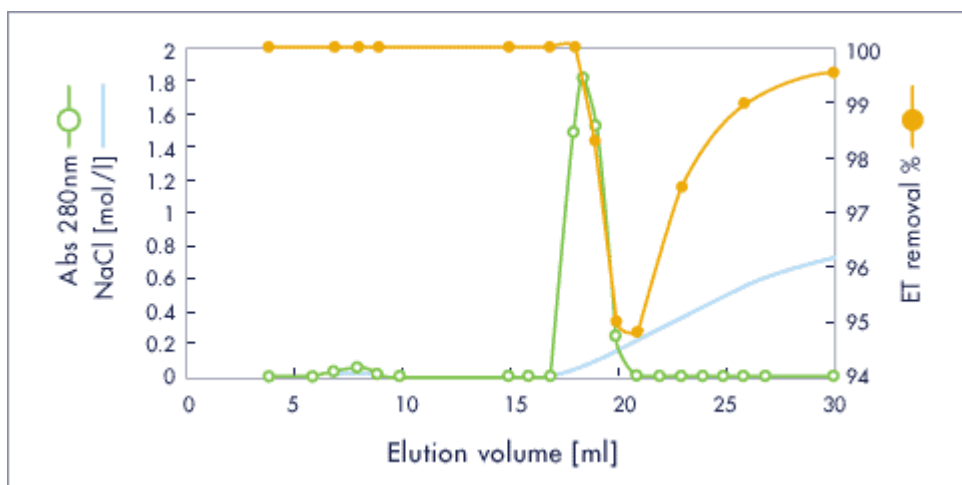
ETクリーンLによるインスリンA鎖からのエンドトキシン除去

ロードサンプル (1ml) : 13 mg / ml, エンドトキシン量 309 EU / ml



ETクリーンLによるトランスフェリンからのエンドトキシン除去

ロードサンプル (1ml) : 13 mg / ml, エンドトキシン量 2982 EU / ml



参考文献

- 1) M. Sakata, M. Todokoro, C. Hirayama, *American Biotechnol. Lab.*, **20** (2002) 36.
- 2) M. Todokoro, M. Sakata, S. Matama, M. Kunitake, J. Ohkuma, C. Hirayama, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **25** (2002) 601.

セルファインET クリーンは熊本大学とJNC株式会社の共同研究で開発されました。

ご注文情報

セルファイン ET クリーン L		セルファイン ET クリーン S	
パックサイズ	カタログ No.	パックサイズ	カタログ No.
ミニカラム 1ml x 5	20051	ミニカラム 1ml x 5	20151
ミニカラム 5ml x 1	20015	ミニカラム 5ml x 1	20115
10 ml	681 984 324	10ml	682 985 324
50 ml	681 984 326	100ml	682 985 326
500 ml	681 984 328	500 ml	682 985 328
5 L	681 984 330	5 L	682 985 330
10 L	681 984 335	10 L	682 985 335

お問い合わせ

(テクニカルサポート・購入のご依頼)

(北米)
JNC America Incorporated
555 Theodore Fremd Avenue, Suite C-206
Rye, NY 10580 USA
TEL: 914-921-5400
FAX: 914-921-8822
E-mail: cellufine@jncamericany.com

(日本、アジア、その他)
JNC株式会社
ライフケミカル事業部
〒100-8105
東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号
新大手町ビル 9 階
Tel: +81-3-3243-6150
Fax: +81-3-3243-6219
E-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp