

## 取扱説明書

ゲルろ過クロマトグラフィー充填剤  
セルファイン GCL-2000HF

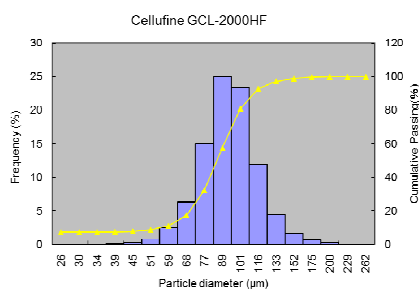
**概要**

セルファイン GCL-2000HF はセルファイン GCL-2000 と同等の細孔サイズを有したゲルろ過クロマトグラフィー充填剤です。高流速で通液が可能で、優れた分離性能が特長です。硬い真球状のセルロース粒子のため、カラム高さを積層しても良好な通液性を備えています。このため大型カラムでも使用することができます。さらにセルファイン GCL-2000HF は多くの化学薬品に安定のため、多様なバッファーや溶液中で操作することができます。

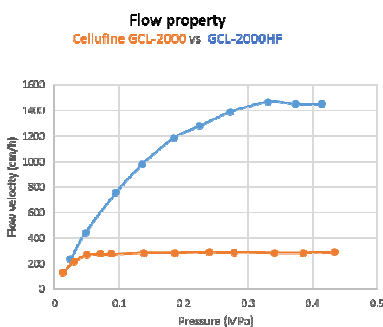
**物理的・化学的特長**

ベース担体	セルロース
粒子形状	真球
粒子径 (μm)	40~130 μm (平均 90 μm)*
pH 安定性	1~14
操作圧力	< 0.2 MPa**
保存液	20 % EtOH 水溶液

\*セルファイン GCL-2000HF の粒度分布 (左図)、 \*\*セルファイン GCL-2000 と GCL-2000HF の流速特性 (右図)



平均メジアン粒径 = 85 μm



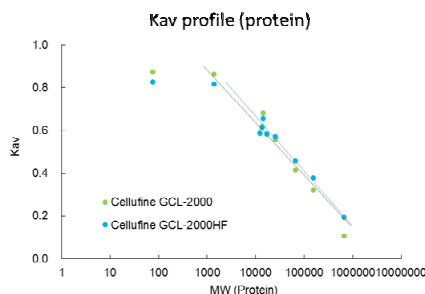
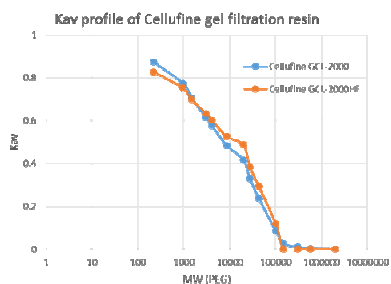
カラム: 2.2 cm I.D. x 20 cm

移動相: 純水 (24 °C)

## 排除限界分子量

PEG : 200 kDa

タンパク質 : 3,000 kDa



Protein	MW
IgM	900,000
Thyroglobulin	660,000
h-γ-globulin	155,000
BSA	66,000
Chymotrypsinogen A	25,700
α-chymotrypsin	25,200
Myoglobin	17,000
Lyszyme	14,300
RNAse	13,700
Cytochrome C	12,400
Bactracin	1,400
Glycine	75

## カラム充填方法

以下のカラム充填方法は一般的なゲルろ過カラムに適用することができる。

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. 注意深くスラリーをカラムに流し込んだ後、カラム底部のエンドフィッティングを外す。
4. スラリーが沈降してカラム高さが安定したら、純水で 30～60 分通液する。このとき操作圧は 0.2 MPa 以内で通液する。ラボスケールの場合は使用時の 20～100 %高い流速で 5～10CV（カラム体積）通液すればよい。
5. コンプレッションファクター（Cf）\*\*\*まで充填剤を圧縮していく。  
セルファイン GCL2000 HF の最適な Cf 値: 1.10 ～1.15\*\*\*\*
6. カラムパッキング状態を評価する。  
1-2%アセトンまたは 0.1 M NaCl を用いたアシンメトリー、HETP の評価

\*\*\* : コンプレッションファクター (Cf) = 自然落下カラム高さ / パッキング時のカラム高さ

自然落下カラム高さはメスシリンダー内で 24 時間、自然沈降させて測定する。

\*\*\*\* : 40 ～ 100 cm カラム高さの手動による充填の場合、

Cf = 1.05 になるように充填する。

充填後は純水やバッファーで 30～60 分、0.2 MPa で通液する。通液中にフィルターと充填剤上部に隙間が見られた場合は、カラムを充填剤上部まで押し込むこと。

## 操作ガイドライン

### 一般的な使用方法

適切な流速で2~5 CVのバッファーで平衡化する。

### サンプル準備とサンプルのロード

サンプルは移動相で調製することが望ましいが、バッファー置換ができない場合であっても使用できる。不溶物を除去するためにフィルターろ過する。分離能を向上させるためにはカラム体積の0.1~1%のサンプル量をロードすることが望ましい。一般的な用途ではカラム体積の5%をロードする。バッファー交換や脱塩を行いたい場合、カラム体積の15~25%をロードすることでサンプルの希釈を抑制することができる。サンプルのタンパク質濃度は1~20 mg/mlに調製すること。

**推奨流速:** 5 - 50 cm/h

### 溶出

溶出はイソクラティックモード（単一のバッファー）で溶出させる。バッファーの置換を行いたい場合、目的のバッファーでカラムを平衡化した後、サンプルをロードする。

### 化学薬品の安定性

pH 1~14

エタノール, メタノール, アセトンなど

6 M 尿素

6 M グアニジン塩酸塩

0.1 M HCl

0.5 M NaOH

一般的な塩 (NaCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> など)

一般的な界面活性剤 (SDS, Tween®, CHAPS など)

オートクレーブ: 121° C、1 bar、20分

### 再生

カラム体積の5倍の0.1 M NaOHを5~50 cm/hで洗浄する。アルカリ洗浄液を通液した後は、純水かバッファーを通液して平衡化する。通液後のpHを測定することでカラムの平衡化を確認することができる。

### 保存方法

密閉した容器内で常温保存が可能。凍結しないこと。

2週間以内でバルクおよびカラムの状態ですべての純水、20%エタノール、0.1 M NaOHでの保存が可能。長期保存する場合は2~8°Cで保存すること。

**保証期限**

製造日から5年。

# 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](mailto:cellufine@jnc-corp.co.jp)

ホームページアドレス: <http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>