

## JNC 株式会社

## 取扱説明書

## ミニカラム セルファイン

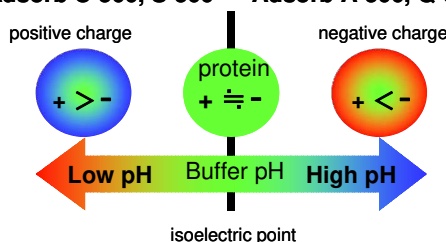
A-200, A-500, A-800, Q-500, C-500 and S-500



## 1. 概要

セルファイン A-200、A-500、A-800、Q-500、C-500、S-500 をミニカラムに充填しているため、簡単に使用することができる。セルファインイオン交換クロマトグラフィー充填剤はタンパク質、酵素、多糖などの高分子を濃縮・精製するように設計されている。担体は真球で物理的強度の高いセルロースにイオン交換基を付加している。

## Adsorb C-500, S-500      Adsorb A-500, Q-500



## カラム

セルファインミニカラムはポリプロピレン製のチューブに超高分子量ポリエチレン製のフィルターを組み合わせて構成されている。ミニカラムは一般的な 10 - 32UNF 規格のフィンガータイトコネクタにより、1/16 インチチューブでクロマトグラフィーシステムと接続できる。

表 1 ミニカラムの特長

カラム体積	1 ml または 5 ml
カラム形状 (i. d. x L)	6.7 mm x 30 mm (1 ml) 14.6 mm x 30 mm (5 ml)
リガンド	A-200: ジエチルアミノエチル基 A-500: ジエチルアミノエチル基 A-800: ジエチルアミノエチル基 Q-500: 四級アンモニウム基 C-500: カルボキシル基 S-500: スルホブチル基
イオン交換容量	A-200: 0.8 - 1.1 meq/g A-500: 1.1 - 1.4 meq/g A-800: 0.6 - 1.0 meq/g Q-500: 1.2 - 1.9 meq/g C-500: 0.9 - 1.2 meq/g S-500: 1.1 - 1.5 meq/g
タンパク質吸着量	A-200: $\geq 80$ mg/ml (BSA) A-500: $\geq 60$ mg/ml (BSA) A-800: $\geq 45$ mg/ml (BSA) Q-500: $\geq 10$ mg/ml (BSA) C-500: $\geq 70$ mg/ml (リゾチーム) S-500: $\geq 110$ mg/ml (リゾチーム)
粒径	ca 90 $\mu$ m
ベース担体	真球状の架橋セルロース粒子
最大圧力	0.4 MPa (4 bar)
推奨流速	0.1 - 1.0 ml/min (1 ml) 0.1 - 5.0 ml/min (5 ml)
pH 安定性	3 - 12
保存方法	20%エタノールに置換後、冷暗所で保存。

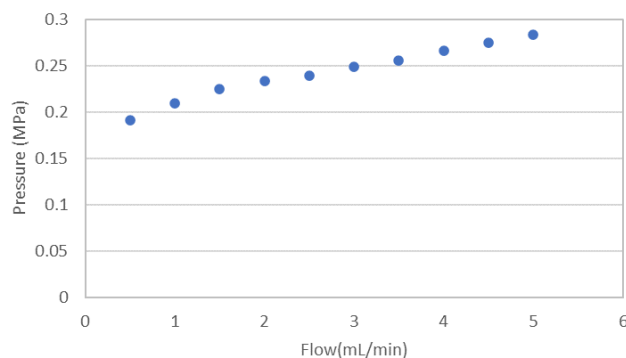
\*高濃度の塩添加バッファーで測定

## 2. 操作ガイドライン

## 一般的な使用方法

- (1) 吸着バッファーでカラムを平衡化する。
- (2) 吸着バッファーに溶解されたサンプルをロード。
- (3) 未吸着の不純物を除去するため、吸着バッファーで複数回洗浄する。
- (4) 溶出バッファーで吸着された目的物質を溶出する。

セルファイン IEC ミニカラムの典型的な流速特性（下図はセルファイン A-500）を AKTA システム（Cytiva 製）で測定した。



システム: Akta avant 25

Flow Restrictor FR-902: in line

移動相: 純水

温度: 20-25°C

カラム接続配管: ID 5mm x 20 cm, 2本 (カラム上下)

## 推奨バッファー

**吸着バッファー:** 10 mM~50 mM の低イオン強度のバッファーを推奨する。イオン種はリン酸、酢酸、トリスなどが使用できる。応用次第ではその他のイオン種のバッファーも使用できると思われる。一般的にタンパク質の吸着の強さは pH とイオン強度によって変化する。不純物の結合を弱める目的で、バッファーのイオン強度を少し高くすることもできる。ノニオン性の界面活性剤 (Tween®20, Triton® X など) も不純物の溶出性を高めることができる。

**溶出バッファー:** 吸着バッファーに 0.5M の NaCl または KCl を加える。最適な塩濃度はグラジエント溶出による予備検討で確定させる。分取クロマトグラフィーにおいてはステップワイズで溶出させることが一般的である。

## サンプルの準備

サンプルは吸着バッファーに 1~20 mg/ml になるように溶解する。不溶物は遠心分離かフィルターによって除去する。必要であれば、脱塩フィルターや透析、セルファイン GH-25 などの脱塩カラムでバッファー交換しても良い。

Purification and molecular characterization of a novel b5-type cytochrome of the parasitic nematode, *Ascaris suum*.

Yu Y, *et al*

Anim. Sci. Technol. 1995, 66(6) pp 513-22

Purification and characterization of Japanese quail (*Coturnix japonica*) egg white proteins with inhibitory effects on Tlymphocyte mitogen-induced proliferative responses of mouse spleen cells

Otani, Hajime Nakaya, *et al*

## 8. 追加情報

さらに情報を得たい場合、セルフラインホームページを参照すること。  
<https://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>

## 9. 注文情報

製品名	容量	カタログ No.
ミニカラム セルフライン A-200, 1 ml	5 x 1 ml	19611-51
ミニカラム セルフライン A-200, 5 ml	5 x 5 ml	19611-55
ミニカラム セルフライン A-500, 1 ml	5 x 1 ml	19805-51
ミニカラム セルフライン A-500, 5 ml	5 x 5 ml	19805-55
ミニカラム セルフライン A-800, 1 ml	5 x 1 ml	19800-51
ミニカラム セルフライン A-800, 5 ml	5 x 5 ml	19800-55
ミニカラム セルフライン Q-500, 1 ml	5 x 1 ml	19907-51
ミニカラム セルフライン Q-500, 5 ml	5 x 5 ml	19907-55
ミニカラム セルフライン C-500, 1 ml	5 x 1 ml	19800-51
ミニカラム セルフライン C-500, 5 ml	5 x 5 ml	19800-55
ミニカラム セルフライン S-500, 1 ml	5 x 1 ml	21200-51
ミニカラム セルフライン S-500, 5 ml	5 x 5 ml	21200-55
セルフライン A-200	100 ml	676 980 327
セルフライン A-500	100 ml	675 980 327
セルフライン A-800	100 ml	673 980 327
セルフライン Q-500	100 ml	675 982 327
セルフライン C-500	100 ml	675 983 327
セルフライン S-500	100 ml	21200
セルフライン GH-25	100 ml	670 000 327
ミニカラム セルフライン GH-25, 5 ml	5 x 5 ml	19711-55

## 10. お問い合わせ

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-mail : cellufine@jnc-corp.co.jp

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

## 3. 精製方法

- (1) ポンプまたはシリンジでカラムを吸着バッファーで置換する。入口のプラグ（カラム上部）を外し、ポンプまたはシリンジとカラムを接続する。このとき空気がカラムに入らないように注意する。
- (2) カラム出口のプラグを外す。
- (3) カラム内の保存液を吸着バッファーに置換するため、10カラム体積（CV）分の吸着バッファーを通液して平衡化する。
- (4) カラムにポンプやシリンジを用いてサンプルロードする。
- (5) 吸着バッファーを5~10 CV 通液して洗浄する。
- (6) 溶出バッファーを5~10 CV 通液してタンパク質を溶出する。（グラジエント溶出またはステップワイズ溶出）

## 4. 再生方法と脱バイロジェン

セルフラインイオン交換クロマトグラフィー充填剤は2~3 Mの高塩濃度のNaClを用いて再生と脱バイロジェンを行う。もし不十分なら3~10カラム体積（CV）の0.1 N NaOH（陰イオン交換体の場合）または0.1 N HCl（陽イオン交換体の場合）で洗浄後に、2~3 M NaClでpH 7になるまで洗浄する。次いで吸着バッファーで洗浄して次の操作に備える。

## 5. スケールアップ

2~3つのミニカラムを連結することができる。

## 6. 保存方法

カラムを5~10 CVの20%（v/v）エタノール水溶液で置換する。冷蔵で保存すること。

注意：ミニカラムの乾燥を防ぐために、エンドプラグはきつく締めること。

## 7. 参考文献

（陰イオン交換クロマトグラフィー充填剤）

Biosci Biotechnol Biochem. 2004, 68 (6) pp1299-305

A chitinase indispensable for formation of protoplast of *Schizophyllum commune* in

basidiomycete-lytic enzyme preparation produced by *Bacillus circulans* KA-304. Yano S, *et al*.

Toxicon. 2000, 38 (3) pp463-8.

Purification and some properties of a tetrodotoxin binding protein from the blood plasma of kusafugu, *Takifugu niphobles*. Matsui T, *et al*

Infect Immun. 1999, 67 (8) pp 4014-8.

New exfoliative toxin produced by a plasmid-carrying strain of *Staphylococcus hyicus*. Sato H, *et al*

Insect Biochem Mol Biol. 1997, 27 (8-9) pp 757-67.

Purification and characterization of *Bombyx mori* chitinases. Koga D, *et al*

（陽イオン交換クロマトグラフィー充填剤）

Arch Biochem Biophys. 1996, 328(1) pp 165-72.