JNC 株式会社

取扱説明書

ミニカラム セルファイン MAX DexS-HbP、MAX DexS-VirS

Cellufine™ MAX

1. 概要

セルファイン MAX 充填剤は高度に架橋された真球状の物理的強度が高いセルロース粒子を用いている。このため高流速で通液することができる。セルファイン MAX DexS はヘパリン結合性タンパク質やウイルス粒子を精製、濃縮することができるヘパリン固定化担体の代替となる充填剤である。セルファイン DexS は 2 種類をラインナップとして取り揃えている。異なる 2 種類のデキストラン硫酸ポリマーを表面修飾している。a) DexS-HbP はヘパリン結合性タンパク質（heparin binding proteins）を精製するのに適している。b) DexS-VirS はヘパリンにアフィニティー活性のあるウイルスやウイルス粒子を精製するのに適している。

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ーにより、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 h）	6.7 mm x 30 mm（1 ml） 14.6 mm x 30 mm（5 ml）
リガンド	MAX DexS-HbP; デキストラン硫酸 硫黄含量≥ 36 μmol/ml MAX DexS-VirS; デキストラン硫酸 硫黄含量≥ 74 μmol/ml
粒径	ca. 90 μm
ベース担体	高度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	4～12
保存方法	20%エタノールに置換後、冷暗所で保存。

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。

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に 10 mM～50 mM の NaCl を添加した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 0.5～1 M 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

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をロードする。

（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）

（クリーニングとサニタリゼーション）

必要であれば 0.1 M～0.5 M NaOH による洗浄ができる。70 %エタノールまたはノニオン性の界面活性剤、またはその混合物なども使用できる。洗浄後は吸着バッファーで再平衡化すること。

4. 再生方法と脱パイロジェン

セルファイン MAX DexS 充填剤は純水を用いて再生と脱パイロジェンを行う。もし不十分なら 2～10℃の条件で 3～10 カラム体積（CV）の 0.1 N NaOH で洗浄後に、中性 pH になるまで洗浄する。2～4 CV のエタノール、アセトンなどの洗浄も効果的である。洗浄後は純水と吸着バッファーで洗浄して次回の操作に備える。

セルファイン™ は JNC 株式会社の登録商標です。

5. 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。

6. 追加情報

さらに情報を得たい場合、セルファインホームページを参照すること。

https://www.jnc-corp.co.jp/fine/en/cellufine/

7. 注文情報

製品名	容量	カタログ No.
ミニカラム セルファイン MAX DexS-HbP, 1 ml	5 x 1 ml	21700-51
ミニカラム セルファイン MAX DexS-HbP , 5 ml	1 x 5 ml	21700-15
ミニカラム セルファイン MAX DexS-VirS, 1 ml	5 x 1 ml	21800-51
ミニカラム セルファイン MAX DexS-VirS, 5 ml	1 x 5 ml	21800-15
セルファイン MAX DexS-HbP	50 ml	21701
セルファイン MAX DexS-VirS	50 ml	21801
セルファイン GH-25	100 ml	670 000 327
ミニカラム セルファイン GH-25	5 x 5 ml	19711-55

8. 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/

セルファイン™ は JNC 株式会社の登録商標です。