

JNC 株式会社

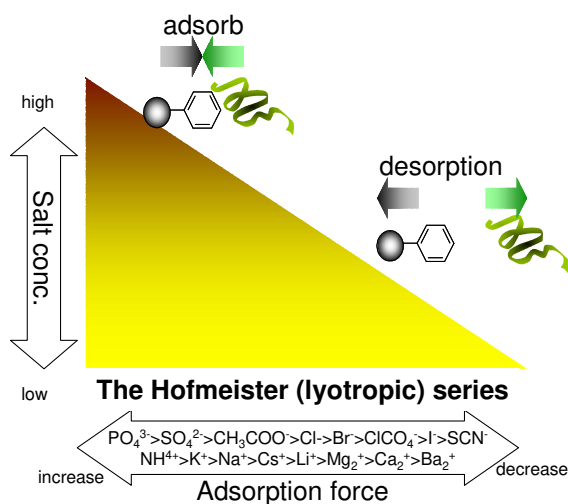
取扱説明書

ミニカラム セルファイン MAX ブチル、セルファイン MAX ブチル HS、MAX フェニル、MAX フェニル LS



1. 概要

ミニカラム セルファイン MAX 疎水相互作用クロマトグラフィー充填剤（ブチル、ブチル HS、フェニル、フェニル LS）は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 MAX 疎水相互作用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。担体は真珠で物理的強度の高いセルロースに疎水基を付加している。セルファイン MAX シリーズは高度に架橋されたセルロース粒子にリガンドを付加した充填剤である。



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	MAX フェニル: フェニル基 MAX ブチル: ブチル基
吸着量 (BSA)	MAX ブチル: ≥ 9 mg/ml MAX ブチル HS: ≥ 13 mg/ml MAX フェニル: ≥ 11 mg/ml MAX フェニル LS: ≥ 4 mg/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	3 - 12
保存方法	20%エタノールに置換後、冷暗

セルファイン™ は JNC 株式会社の登録商標です。

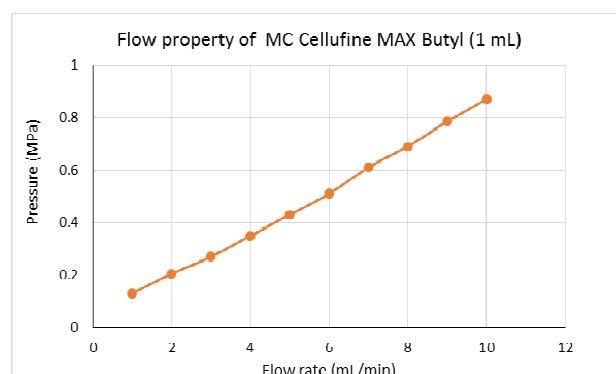
所で保存。

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。

ミニカラム セルファイン MAX 疎水相互作用クロマトグラフィーの典型的な流速特性（下図はセルファイン MAX ブチル）を AKTA システム（GE ヘルスケア製）で測定した。



移動相: 純水 (23 °C)、リストリクターを外して測定。

推奨バッファー

吸着バッファー: タンパク質が沈殿しない濃度の硫酸アンモニウムを含む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。一般的にタンパク質の吸着の強さは塩濃度の強さに比例して高くなる。不純物の結合を弱める目的で、バッファーの塩濃度を少し低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: 吸着バッファーに添加された硫酸アンモニウムの濃度を下げることで溶出することができる。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。溶出が不十分の場合、カオトロピック試薬やエチレングリコールを加えることができる。

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) ポンプまたはシリッ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に置換するため、10カラム体積 (CV) 分の吸着バッファを通過して平衡化する。
- (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) 吸着バッファを 5~10 CV 通過して洗浄する。
- (6) 溶出バッファを 5~10 CV 通過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)

(クリーニングおよび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 疎水相互作用クロマトグラフィー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°C の条件で 3~10 カラム体積 (CV) の 0.1 N NaOH で洗浄後に、2~3 M NaCl で中性 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。洗浄後は吸着バッファ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

International Journal of Biochemistry & Cell Biology (2006) 38(4) pp 521-532

"Primary structure and properties of Mn-superoxide dismutase from scallop adductor muscle" Ikebuchi, Makoto; Takeuchi, *et. al.*

PDA Journal of GMP and Validation in Japan (2000) 2(1) pp 28-33

Purification of Recombinant Human Serum Albumin. Akinori SUMI, *et. al.*

Lipids. (2000) 35(12) pp 1359-70.

Purification, characterization, and molecular cloning of group I phospholipases A2 from the gills of the red sea bream, *Pagrus major*. Iijima N, *et. al.*

J Biochem (Tokyo). (1998) 123(2) pp 219-25.

Purification and some characteristics of phosphatase of a psychrophile. Tsuruta H, *et. al.*

Protein Expr Purif. (1995) 6(5) pp 679-84.

Overexpression and purification of the trimetric aspartate transcarbamoylase from *Bacillus subtilis*. Baker DP, *et. al.*

Biosci. Biotechnol., Biochem. (1993) 57(2) pp 177-80

Purification and characterization of Actium lappa L. (edible burdock) polyphenol oxidase

8. 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。

<http://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		
セルファイン MAX ブチル, 1 ml	5 x 1 ml	21100-51
ミニカラム		
セルファイン MAX ブチル, 5 ml	5 x 5 ml	22200-55
ミニカラム		
セルファイン MAX ブチル HS, 1 ml	5 x 1 ml	22200-51
ミニカラム		
セルファイン MAX ブチル HS, 5 ml	5 x 5 ml	21100-55
ミニカラム		
セルファイン MAX フェニル, 1 ml	5 x 1 ml	20700-51
ミニカラム		
セルファイン MAX フェニル, 5 ml	5 x 5 ml	20700-55
ミニカラム		
セルファイン MAX フェニル LS, 1 ml	5 x 1 ml	20800-51
ミニカラム		
セルファイン MAX フェニル LS, 5 ml	5 x 5 ml	20800-55
セルファイン MAX ブチル	100 ml	21100
セルファイン MAX ブチル HS	100 ml	22200
セルファイン MAX フェニル	100 ml	20700
セルファイン MAX フェニル LS	100 ml	20800
セルファイン GH-25	100 ml	670 000 327
ミニカラム	5 x 5 ml	19711-55
セルファイン GH-25, 5 ml		

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