

## JNC 株式会社

## 取扱説明書

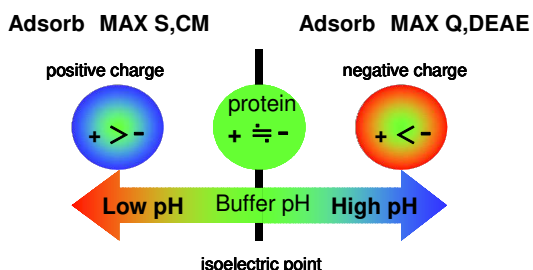
ミニカラム セルファイン MAX S-r, S-h, Q-r, Q-h, Q-hv

CM, DEAE, GS



## 1. 概要

ミニカラム セルファイン MAX S-r, S-h, Q-r, Q-h, Q-hv, CM, DEAE, GS 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 MAX 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。



## 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)<br>14.6 mm x 30 mm (5 ml)                                                                                                                                                                      |
| リガンド                             | S-r, S-h, GS: $-\text{SO}_3^-$<br>Q-r, Q-h, Q-hv: $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$<br>DEAE: $-\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2$<br>CM: $-\text{CH}_2\text{COO}^-$                                  |
| イオン交換容量                          | S-r: 0.09 - 0.21 meq/ml<br>S-h: 0.10 - 0.22 meq/ml<br>Q-r: 0.10 - 0.20 meq/ml<br>Q-h: 0.13 - 0.22 meq/ml<br>Q-hv: 0.04 - 0.07 meq/ml<br>CM: 0.09 - 0.22 meq/ml<br>DEAE: 0.12 - 0.22 meq/ml<br>GS: 0.09 - 0.15 meq/ml |
| 動的吸着量<br>(300 cm/h, 10%ブレイクスルー時) | S-r: >110 mg/ml (IgG)<br>S-h: >180 mg/ml (IgG)<br>Q-r: >110 mg/ml (BSA)<br>Q-h: >180 mg/ml (BSA)<br>Q-hv: >120 mg/ml (BSA)<br>CM: >80 mg/ml (IgG)<br>DEAE: >100 mg/ml (BSA)<br>GS: >50 mg/ml (IgG)                   |
| 粒径                               | ca. 40~130 $\mu\text{m}$                                                                                                                                                                                             |
| ベース担体                            | 高度架橋セルロース粒子にデキストランを付加                                                                                                                                                                                                |
| 最大圧力                             | 0.4 MPa (4 bar)                                                                                                                                                                                                      |
| 推奨流速                             | 0.1 - 1.0 ml/min (1 ml)<br>0.1 - 5.0 ml/min (5 ml)                                                                                                                                                                   |
| pH 安定性                           | 3 - 12                                                                                                                                                                                                               |
| 保存方法 (長期)                        | 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 0.5~1.0 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。

## 4. 再生方法と脱パイロジェン

セルファイン MAX 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 を用いて再生と脱パイロジェンを行う。もし不十分なら 3~10 カラム体積 (CV) の 0.1 M~0.5 M

NaOH（陰イオン交換体の場合）または2～10℃の条件で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で洗浄して 次回の操作に備える。

## 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.

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 T lymphocyte mitogen-induced proliferative responses of mouse splenocytes

Otani, Hajime Nakaya, *et al*

## 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。

<https://www.jnc-corp.co.jp/fine/en/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 S-r, 1 ml  | 5 x 1 ml | 20300-51    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX S-r, 5 ml  | 5 x 5 ml | 20300-55    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX S-h, 1 ml  | 5 x 1 ml | 20400-51    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX S-h, 5 ml  | 5 x 5 ml | 20400-55    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX Q-r, 1 ml  | 5 x 1 ml | 20500-51    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX Q-r, 5 ml  | 5 x 5 ml | 20500-55    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX Q-h, 1 ml  | 5 x 1 ml | 20600-51    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX Q-h, 5 ml  | 5 x 5 ml | 20600-55    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX Q-hv, 1 ml | 5 x 1 ml | 22100-51    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX Q-hv, 5 ml | 5 x 5 ml | 22100-55    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX CM, 1 ml   | 5 x 1 ml | 20900-51    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX CM, 5 ml   | 5 x 5 ml | 20900-55    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX DEAE, 1 ml | 5 x 1 ml | 21000-51    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX DEAE, 5 ml | 5 x 5 ml | 21000-55    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX GS, 1 ml   | 5 x 1 ml | 21300-51    |
| ミニカラム                 |          |             |
| セルファイン MAX GS, 5 ml   | 5 x 5 ml | 21300-55    |
| セルファイン MAX S-r        | 100 ml   | 20300       |
| セルファイン MAX S-h        | 100 ml   | 20400       |
| セルファイン MAX Q-r        | 100 ml   | 20500       |
| セルファイン MAX Q-h        | 100 ml   | 20600       |
| セルファイン MAX Q-hv       | 100 ml   | 22100       |
| セルファイン MAX CM         | 100 ml   | 20900       |
| セルファイン MAX DEAE       | 100 ml   | 21000       |
| セルファイン MAX GS         | 100 ml   | 21300       |
| 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 : 03-3243-6219

e-mail: [cellufine@jnc-corp.co.jp](mailto:cellufine@jnc-corp.co.jp)

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