

JNC株式会社

取扱説明書

ミニカラム セルファイン フォスフェイト



1. 概要

ミニカラム セルファイン フォスフェイト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 フォスフェイトは核酸と吸着性のあるタンパク質、酵素を濃縮・精製するように設計されたアフィニティークロマトグラフィー充填剤である。担体は真球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。ベース担体は真球状のセルロース粒子を使用している。

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) 14.6 mm x 30 mm (5 ml)
リガンド	リン酸エステル基
イオン交換容量	0.3 - 0.8 meq/ ml
吸着量 (リゾチーム)	20 mg/ml
粒径	40 to 120 μ m
ベース担体	真球セルロース
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	5 - 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: 0.01 M リン酸 Na, 0.1 M NaCl, pH 7.5 を推奨する。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 1~2 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。

3. 精製方法

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 フォスフェイトは 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 2~10°C の条件で、3~10 カラム体積 (CV) の 0.05 N~0.15N 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 9 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

Nucleic Acids Research, 2006, Vol. 00, No. 00 1-8
Rachel Macmaster, Svetlana Sedelnikova, Patrick J. Baker, Edward L. Bolt1, Robert G. Lloyd1 and John B. Rafferty

RusA Holliday junction resolvase: DNA complex structure—
insights into selectivity and specificity

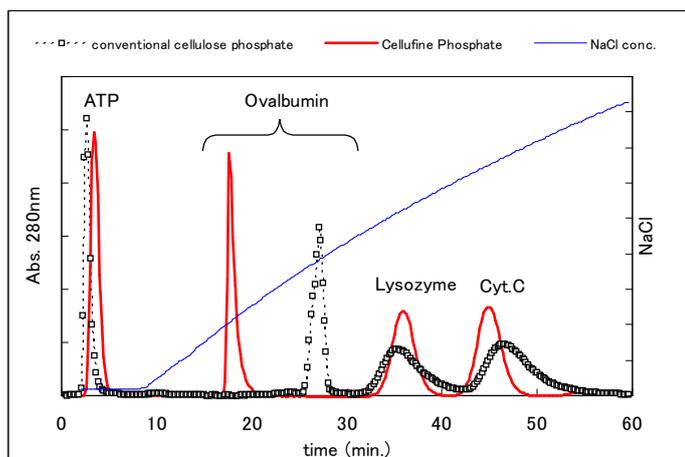


Fig. 1 Separation of mixed sample

Column Size: ID 1.1 cm – Height 10 cm

Flow rate: 2 ml/min (126 cm/h)

Buffer: 0.01 M acetate buffer, pH4.8

Elution: 0 to 1 mol/l NaCl gradient

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/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 フォスフェイト, 1 ml	5 x 1 ml	19551
ミニカラム セルファイン フォスフェイト, 5 ml	1 x 5 ml	19515
セルファイン フォスフェイト	50 ml	19545
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

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/>