JNC 株式会社

取扱説明書

ミニカラム セルファイン サルフェイト

1. 概要

ミニカラム セルファイン サルフェイトはミニカラムに充填されているため、簡単に使用することができる。セルファイン サルフェイトはウイルス、ウイルス由来抗原、細菌由来抗原または血液凝固因子などのヘパリン結合性タンパク質を精製、濃縮することができるアフィニティークロマトグラフィー充填剤である。セルファイン サルフェイトミニカラムはあらかじめミニカラムにセルファイン サルフェイトが充填されている。担体は真球で物理的強度の高いセルロースに低濃度の硫酸エステル基が付加されている。これらリガンドがヘパリン固定化担体と同様のアフィニティー活性を与える。

セルファイン サルフェイトの排除限界分子量は 3 kD のため、大きな分子は担体の表面のみに吸着する。この吸着方法が迅速な吸着と溶出を実現している。セルファイン サルフェイトは物理的強度が高いため、高流速の通液が可能である。このため、ダウンストリームプロセスのリードタイム短縮が可能である。エンドトキシンなどのパイロジェンはセルファイン サルフェイトに吸着しない。このため、パイロジェンは精製水を数カラム体積分、通液することで除去できる。

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　セルファイン サルフェイト 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	硫酸エステル基
リガンド量	700 μg/g
吸着量	3 mg/ml
粒径	40～130 μm
ベース担体	真球セルロース粒子
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。

2. 操作ガイドライン

一般的な使用方法

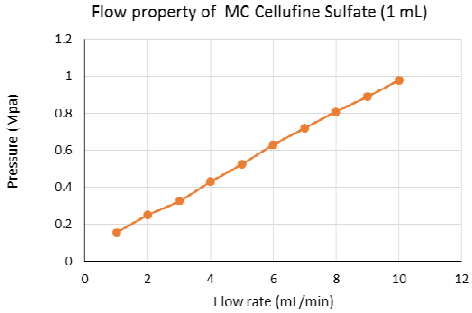
(1) 吸着バッファーでカラムを平衡化する。

(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 サルフェイト ミニカラムの流速特性を 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：0.01 M リン酸 Na + 0.1 M NaCl pH 7.5。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。

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。

セルファイン™ は JNC 株式会社の登録商標です。

4. 再生方法と脱パイロジェン

セルファイン サルフェイトは 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 3～10 カラム体積（CV）の 0.05～0.15 N NaOH 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。保存温度は 2～8℃の冷蔵保存にすること。
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

Preparation of endotoxin-free bacteriophages.
Cell Mol Biol Lett. 9(2) 253-9. (2004)
Boratynski J, Syper D, Weber-Dabrowska B, Lusiak-Szelachowska M, Pozniak G, Gorski A.

Development of Vero cell-derived inactivated Japanese encephalitis vaccine.
Biologicals. 30(4) 303-14. (2002)

Sugawara K, Nishiyama K, Ishikawa Y, Abe M, Sonoda K, Komatsu K, Horikawa Y, Takeda K, Honda T, Kuzuhara S, Kino Y, Mizokami H, Mizuno K, Oka T, Honda K.

Purification of a functional gene therapy vector derived from Moloney murine leukaemia virus using membrane filtration and ceramic hydroxyapatite chromatography.
Biotechnol Bioeng. 80 (4) 445-53. (2002)
Kuiper M, Sanches RM, Walford JA, Slater NK.

Scaleable chromatographic purification process for recombinant adeno-associated virus (rAAV). J Gene Med. 2(6)444-54. (2000)
O'Riordan CR, Lachapelle AL, Vincent KA, Wadsworth SC.

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 サルフェイト	5 x 1 ml	19845-51
ミニカラム セルファイン サルフェイト	1 x 5 ml	19845-15
セルファイン サルフェイト	10 ml	676943324
セルファイン サルフェイト	50 ml	19845
セルファイン GH-25	100 ml	670000327
ミニカラム セルファイン GH-25	5 x 5 ml	19711-55

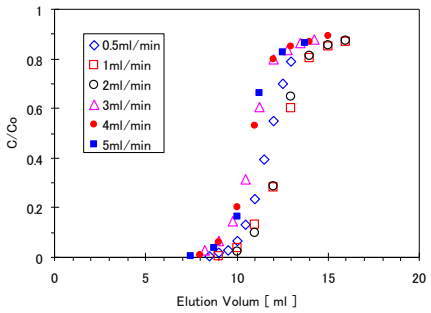


Fig 1. Binding capacity of Lysozyme on CapCell Sulfate 1mL with various flow rate.

カラム : セルファイン サルフェイト ミニカラム 1 ml
サンプル: リゾチーム 1 g/ml (0.01 M Na-phosphate, pH7)
検出: UV 280 nm

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
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。