

TOYOPEARL®

活性化型アフィニティークロマト用担体

TOYOPEARL AF-Formyl-650M

# 取扱説明書



TOSOH

東ソー株式会社

## ご使用前に

- 本製品を使用する前に、必ずこの取扱説明書をよく読んで理解してください。
- この取扱説明書は、手近な所に大切に保管し、必要なときにいつでも取り出せるようにしてください。
- 製品本来の使用法および取扱説明書で指定した使用法を守ってください。
- 本書の安全に関する指示に対しては、指示内容を理解の上、必ず従ってください。

以上の指示を必ず厳守してください。

指示に従わないと、けがや事故の恐れがあります。

### 【取扱説明書について】

- 取扱説明書の内容は、製品の性能・機能の向上により将来予告なしに変更することがあります。
- 取扱説明書の全部または一部を無断で転載、複製することは禁止しています。
- 取扱説明書を紛失したときは、弊社営業担当者までお問い合わせください。
- 取扱説明書の内容に関しては万全を期していますが、万一不審な点や誤り、記載漏れに気づいたときは、お手数ですが巻末の連絡先までご連絡ください。

## 安全上のご注意

- ご使用の前に、この「安全上のご注意」をよくお読みのうえ、正しくお使いください。
- この項目は、いずれも安全に関する内容ですので、必ず守ってください。
- 「警告」「注意」の意味は次のようになっています。

 <b>警告</b>	取扱いを誤った場合、使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの。
 <b>注意</b>	取扱いを誤った場合、使用者が傷害を負う可能性が想定されるものまたは物的損害の発生が想定されるもの。

### ご使用時

#### **警告**

- **火気厳禁**
  - 引火性のある溶媒を使用する場合、火気の使用は厳禁です。火災、爆発の原因になります。

#### **注意**

- **換気に注意を**
  - 引火性、毒性のある溶媒を使用する場合、十分換気しないと火災、爆発、中毒の原因になります。
- **液漏れに注意を**
  - 溶媒等の液漏れは、感電、中毒、薬傷、火災、腐食などの原因になります。液漏れの場合は、適切な保護具を付けた上で、液を取り除いてください。

## 注意

### ● 保護具の着用を

- 有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は、保護メガネ、手袋などの保護具をご使用ください。薬傷を負う恐れがあります。

### ● 容器の取扱いに注意を

- 保存温度および取扱いが不適切であると、容器が破裂、破損する可能性があります。取扱いには十分注意してください。

### ● 適切な使用方法を

- 本バルクゲルは分離、精製等に用いるもので、それ以外の目的には使用しないでください。

### ● 圧力に注意を

- 送液ポンプ等により、本バルクゲルをカラムに充てんまたは充てんし測定する場合、過度な圧力は十分な性能が得られない場合やカラムの破裂、ゲルの飛散等の可能性があります。適切な保護具を付けた上で、十分注意して作業をおこなってください。

### ● 分離精製物の取扱いに注意を

- 得られた分離精製物または精製溶液を製品および中間体として使用する場合は、十分にその安全性の確認をおこなってご使用ください。

### ● 処分には適切な処理を

- 廃棄する場合は、産業廃棄物として適切な処理をおこなってください。
- 購入時の容器が不要になった場合は、溶媒が残らないように処置・洗浄をし、種類別に適切な処分をおこなってください。

## 【その他の注意】

- 本書は保存してください。また、ご利用者が代わる場合には次のご利用者にお渡しください。

## 目次

1. はじめに	1
2. 使用上の注意点	1
2-1 製品	
2-2 ホルミル基量	
2-3 安定性	
3. リガンドの固定化（実施例）	1
3-1 タンパク質（ $-NH_2$ ）の固定化方法	
3-2 タンパク質コンカナバリン A（Con A）の固定化方法	
4. 目づまりの防止（微粒子の除去）	3
5. 保存	3

## 1. はじめに

TOYOPEARL AF-Formyl-650Mは、タンパク質などのアミノ基を持つリガンドを中性付近のpHで還元アミノ化反応により固定化できます。

酸性領域 (pH4.0～6.0) でカップリングするTOYOPEARL AF-Carboxy-650Mに比べTOYOPEARL AF-Formyl-650Mは、中性領域 (pH6.5～9.0) でカップリングすることができます。

## 2. 使用上の注意点

### 2-1 製品

製品ゲルは、劣化防止剤としてグルタルアルデヒド1%を含む水溶液に膨潤、懸たくされています。

洗浄後、ご使用ください。

### 2-2 ホルミル基量

約60mmol/L-gel

### 2-3 安定性

リガンドを固定化したゲルは、非常に安定で、全ての水溶性有機溶媒中で使用することができます。またpH6～9の領域で安定です。

## 3. リガンドの固定化（実施例）

### 3-1 タンパク質（-NH<sub>2</sub>）の固定化方法

- 1) 製品ゲルを水および0.1mol/Lリン酸ナトリウム緩衝液pH7.0（アミノ基を持たない緩衝液ならよい）で、ガラスフィルター（G2）上で手早く洗浄します。
- 2) そのゲルのサクション・ドライ（ガラスフィルター上で減圧脱水処理したもの）2gを測りとります。
- 3) タンパク質を溶かした緩衝液を素早くゲルに加えます。
- 4) NaCNBH<sub>3</sub>を60mg（マイクロスパティラ約3杯分）加えます。
- 5) この溶液を室温（4℃～35℃）で一夜振とう攪拌します。

- 6) 反応後、ゲルを蒸留水→1mol/L NaCl→蒸留水で十分洗浄します。酸性にすると有毒なシアンガスが発生します。洗浄液を分解する際には次亜塩素酸を加えますが、その際に溶液がアルカリ性を保つように留意してください。
  - 7) 残存活性基をブロックするため、8mLの1mol/Lトリス塩酸 (pH7.8) と7mgのNaCNBH<sub>3</sub>を加えて、室温で一時間反応させます。
- 以上の操作にて、タンパク質の固定化量はゲル1g (サクシオン・ドライ) 当たり数mgから約25mgになります。

### 3-2 タンパク質コンカナバリンA (Con A) の固定化方法

- 1) 製品ゲルを蒸留水、次いでバッファー<sup>(\*)</sup>でガラスフィルター (G2) 上で手早く洗浄します。
  - 2) そのゲルのサクシオン・ドライ (ガラスフィルター上で減圧脱水処理したものの) 2gを測りとります。
  - 3) Con A約40mgを3mLのバッファーに溶かし、50mgの $\alpha$ -メチル-D-マンノシドを加えます。
  - 4) ゲルに上記リガンド溶液を加えます。
  - 5) 更に60mgのNaCNBH<sub>3</sub>を加えます。
  - 6) この溶液を4℃で一夜振とう攪拌します。
  - 7) ゲルをバッファーで、次に蒸留水で洗浄します。酸性にすると有毒なシアンガスが発生します。洗浄液を分解する際には次亜塩素酸を加えますが、その際に溶液がアルカリ性を保つように留意してください。
  - 8) Con A (四量体) の分子間をグルタルアルデヒド<sup>(\*\*)</sup>で架橋させます。
  - 9) 残存ホルミル基を1mol/Lトリス塩酸 (pH7.8) でブロックします。
- 以上の操作にて、Con Aはゲル1g (サクシオン・ドライ) 当たり約9mg固定化されます。

(\*) バッファー：0.1mol/L酢酸緩衝液 (pH6.4), 1mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 1mmol/L MnCl<sub>2</sub>, 1mmol/L MgCl<sub>2</sub>

(\*\*) グルタルアルデヒド処理

- \* Con A結合ゲル2g (湿重量) に2mLの蒸留水を加えます。
- \* 更に200mgの $\alpha$ -メチル-D-マンノシドを加えます。
- \* 2%グルタルアルデヒド水溶液を2mL加えます。
- \* 50mgのNaCNBH<sub>3</sub>を加えます。
- \* 4℃で一夜振とう攪拌します。
- \* 蒸留水→1mol/L NaCl→蒸留水で洗浄します。

#### 4. 目づまりの防止（微粒子の除去）

ゲルには若干の微粒子が含まれています。特に多量のゲルをご使用になる場合、目づまりの原因になることも考えられます。

ゲルはデカンテーション（1～2分攪拌して、30分静置後、上澄みを捨てる）を3回程度繰返すことにより微粒子を除去して、ご使用ください。

#### 5. 保存

未使用のゲルは、冷蔵（2℃～8℃）で保存してください。ゲルが薄褐色に染まるがありますが、ゲルの性質に影響はありません。



TOSOH

---

## 東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部

東京本社	営業部	☎(03)5427-5181	〒105-8623	東京都港区芝3-8-2
大阪支店	バイオサイエンスG	☎(06)6344-3857	〒530-0004	大阪市北区堂島浜1-2-6
名古屋支店	バイオサイエンスG	☎(052)211-5730	〒460-0003	名古屋市中区錦1-17-13
福岡支店		☎(092)781-0481	〒810-0001	福岡市中央区天神1-13-2
仙台支店		☎(022)266-2341	〒980-0014	仙台市青葉区本町1-11-1
山口営業所		☎(0834)63-9888	〒746-8501	山口県周南市開成町4560