Cellufine™ MAX DexS

Cellufine MAX DexS 是一种新型的表面改性葡聚糖硫酸盐树脂。这种非动物源的伪亲和配体可以代替固定化肝素用于血液蛋白的分离和病毒捕获。

JNC 提供两种不同的 Cellufine DexS 树脂，采用不同长度的硫酸右旋糖酐聚合物进行表面改性; a）DexS-HbP 用于纯化肝素结合蛋白。b) DexS-VirS，用于纯化病毒和病毒类颗粒，特别是对肝素有亲和力的。这两种树脂，采用了一种基于硫酸右旋糖酐的伪亲和模拟聚合物表面进行开发，提高了现有树脂的蛋白质或病毒捕获效率。所用的交联纤维素基珠体经过优化，适用于大流量应用，完全兼容高达 0.5M 氢氧化钠在位清洗。树脂性能概述见下表 1。

表 1. Cellufine MAX DexS 树脂的性能特征

性能特征		
产品名称	Cellufine MAX DexS-HbP	Cellufine MAX DexS-VirS
配体	右旋糖酐硫酸酯	
基质	高交联纤维素珠体	
粒径	40-130 微米（平均 90 微米）	
含硫量	>36	>74
溶菌酶吸附容量	>50	>56
pH 稳定性	4-12	
操作压力	< 0.3 MPa	
	乙醇(70%)、异丙醇(30%)、盐酸胍(6M)、尿素(6M)	
存储	50%(v/v)悬浮液，0. 1M 磷酸盐缓冲液 pH 8.0-20%(v/v)乙醇	

装柱

1. 计算需要的床体积。
2. 使用水、0.1M 氯化钠溶液或适当的缓冲剂制备 40 - 60 %（v/v）悬浮液。将凝胶在室温下平衡一小时。
3. 轻轻搅拌或置于真空条件下脱气。
4. 关闭柱出口，小心地将悬浮液倒入柱中。根据容量，可能需要填料管。
5. 打开柱入口，释放空气，将顶部调节组件插入并固定在悬浮液界面处。
6. 打开色谱柱出口，开始以比操作流速快 10-20％的速率泵入缓冲液。
7. 床稳定后，关闭色谱柱出口。然后打开入口，重新复位床顶部的端部单元。在上样前用 10 个柱体积的吸附缓冲液平衡。

操作指南

常规操作

1. 用吸附缓冲液平衡色谱柱
2. pH4-9 时上样
3. 用数个床体积的吸附缓冲液洗涤，除去未结合物质。
4. 用解吸缓冲液洗脱结合物。

Cellufine DexS 的一般操作程序见下表 2。pH、缓冲液、盐份、流速等各种条件均可任意优化。

表 2. Cellufine DexS 的一般操作程序

步骤		柱体积	步骤说明
1	平衡	3-10	确保在整个色谱柱中缓冲液的 pH 和电导性都符合所需的上样条件
2	上样	变量	将样品导入色谱柱中以：a）流穿 b）结合和洗脱
3	洗涤	5	10mM 磷酸钠缓冲液, 0.15 M NaCl, pH 7.5
4	洗脱	3-7	10mM 磷酸钠缓冲液, 1.0 M NaCl, pH 7.5
5	再生	3-10	10mM 磷酸钠缓冲液, 0.15 M NaCl, pH 7.5
6	在线清洗	3-10	0.1 -0.5 M NaOH

建议缓冲液

吸附/上样缓冲液：10mM 磷酸钠缓冲液, 0.15 M NaCl, pH 7.5。根据不同的应用，可以使用不同的缓冲离子。一般来说，吸附强度与 pH 值和离子强度成反比。稍微增加离子强度有助于去除结合紧密的物质。非离子洗涤剂(Tween®20、Triton®X 等)也可用于改善溶解度。
洗脱缓冲液：一般采用由 1 - 2 M NaCl 或 KCl 吸附/负载缓冲液组成的流动相。用梯度洗脱法可确定准确的浓度。分阶梯度通常用于制备性应用。

样品制备与上样

在吸附/上样缓冲液中制备浓度为 1-20 毫克/毫升的样品。通过离心法或微滤法去除不溶性物质。如有必要，可使用透析、渗滤或脱盐层析交换样品缓冲液。

流速

针对 Cellufine MAX DexS 的建议流线速度范围为 100 - 300 厘米/小时（缓冲液）。操作时，流速应适当小于色谱柱的最大压力(0.3 MPa)。

化学和物理稳定性

当在 2-30℃时操作，pH4-12

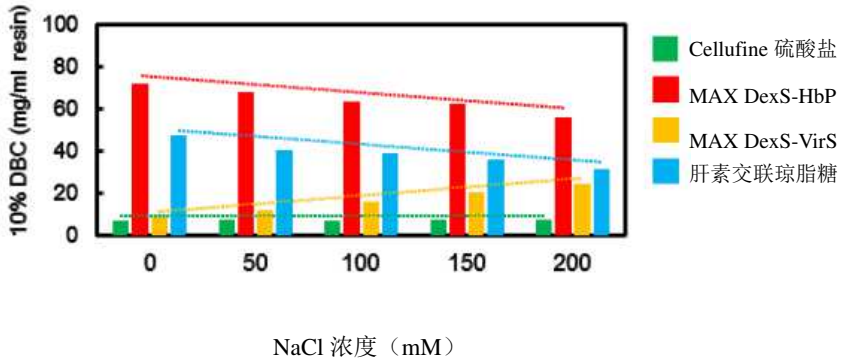
再生与除热

Cellufine DexS 通常用高离子强度(1 - 2 M)NaCl 进行再生。如果这还不够，在 2 - 10℃条件下，用 3 - 10 柱体积的 0.05-0.15 N NaOH 加强再生，然后用 1-3M NaCl 洗涤，直到 pH 降至 9 以下。用初始缓冲液再次清洗色谱柱，直至平衡。

应用实例

硫酸葡聚糖是从天然非动物多糖中提取的一种合成多糖。据报道，硫酸葡聚糖具有与肝素类似的生物活性，在活体内显示出对 HIV-1 复制的选择性抑制，或与肝素辅因子 II 快速结合。同时，右旋糖酐硫酸酯在 IEX 色谱分析中是一种阳离子交换配体。由于这些性质，树脂的吸附/解吸性能受 pH 值和电导率（离子强度）的影响。操作条件应仔细优化。下面的图 1 显示了采用 Cellufine MAX DexS 树脂吸附乳铁蛋白的性能。如需更多资料，请参阅我们在以下网站中所提供的技术说明 https://www.jnc-corp.co.jp/fine/cn/cellufine/guide/index.html.

图 1. 乳铁蛋白与 DexS 树脂、Cellufine 硫酸盐和固定肝素结合



NaCl 浓度（mM）

用上述树脂填充 5 mm 内径×2.5 cm 长的色谱柱，用 10 mM 磷酸钠盐缓冲液 pH 7.5 + 0、50、100 和 150 mM NaCl 平衡。在上述缓冲液中制备乳铁蛋白(2mg /ml)，并以 0.125 ml/min 的流速装填到上述色谱柱，停留时间为 4min。根据各缓冲条件下的蛋白质穿透曲线，估算出 10% DBC (mg/ml 树脂体积)。在上样时，用上述缓冲液+ 1.0 M NaCl 洗脱色谱柱。

Cellufine MAX DexS-HbP 和固定化肝素对乳铁蛋白的保持率呈盐依赖性下降。是典型的树脂(s)在阳离子交换模式的色谱作用。相比之下，Cellufine MAX DexS-VirS 在高盐条件下表现出乳铁蛋白结合力增加，显示了一种不同的作用机制。正如我们期望的，Cellufine 细硫酸盐没有显示出任何明显的乳铁蛋白保持性。

存储

容器开封，室温存储。切勿冷冻。

短期存储（少于或 2 周），溶液主体和色谱柱可以在 2 - 25℃，存储在 1 M NaCl 的中性缓冲液中。长期存储可在同样的条件下进行；不过，缓冲液中应加入 20% (v/v)乙醇或 2% (v/v)苄醇等防腐剂。

贮存期：

自生产之日起 5 年期

说明	数量	产品编号
Cellufine MAX DexS-HbP	5×1 毫升微型柱	21 700-51
	1×5 毫升微型柱	21 700-15
	10 毫升	21 700
	50 毫升	21 701
	500 毫升	21 702
	5 升	21 703
	10 升	21 704
Cellufine MAX DexS-VirS	5×1 毫升微型柱	21 800-51
	1×5 毫升微型柱	21 800-15
	10 毫升	21 800
	50 毫升	21 801
	500 毫升	21 802
	5 升	21 803
	10 升	21 804

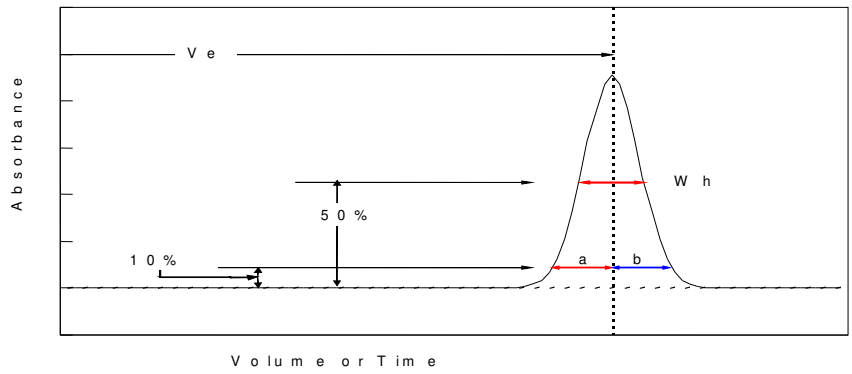
JNC CORPORATION 公司

生命化学事业部
日本东京都千代田区大手町 2 丁目 2-1，邮政编码 100-8105
电话+ 81-3-3243-6150，传真+ 81-3-3234-6219
电子邮件：cellufine@jnc-corp.co.jp
https://www.jnc-corp.co.jp/fine/cn/cellufine/

附录 1：Cellufine 充填后的层析柱评价方法

评价层析柱的充填状态，使用理论级搭板数(N)、相当于理论级数的高度(HETP)、非对称性（As）等指标。这些评价指标会受测定条件的影响。比如，会因层析柱的直径/高度的不同、配管、溶媒试样量、流速、温度等的变化而变化。因此，需要每次使用同样的测定条件来进行层析柱充填后的评价，对同等性加以确认。评价时的流速推荐采用 30cm/h，但可以加快该速度。只是速度越快，理论级搭板数(N)有降低的倾向。为了评价层析柱，需要每次以相同条件（流速、层析柱尺寸、流动相、试样）进行测定。

参数	条件
试样载荷量	层析柱体积的 1 -2.5%的液量
试样组成	1-2 %(v/v) 丙酮（流动相：水及吸附缓冲溶液）
	1 M NaCl（流动相：0.1-0.4M NaCl 溶液）
流速 (cm/h)	30 cm/h
检出器	吸光度 OD 280nm（丙酮时） 电气传导度（NaCl 时）



L	层析柱高度 [cm or m]
V_e	溶出时间（或溶出体积）
W_h	为峰值高度一半时的峰宽
a, b	高度为峰值高度的 10%时的： (a) 偏离中心的前半部的峰值宽度 (b) 偏离中心的后半部的峰值宽度
注意	单位应合并计算。

计算式

$HETP = L/N$ $N = 5.54 \times (Ve/Wh)^2$ $As = b/a$

一般来说，理论级数超过 3,000N/m即视为良好。另外，As 在 0.7～1.5 范围内，视为处于良好状态。