

## 操作说明

### 亲和层析介质

## Cellufine® Phosphate

### 简介

Cellufine Phosphate 是一种亲和层析介质，用于浓缩、纯化蛋白激酶，相关核酸蛋白，如限制性内切酶、核酸酶、聚合酶。该介质基于球状纤维素珠体，采用磷酸酯苯基硼酸基团进行功能化处理。

与传统产品相比，Cellufine Phosphate 具有耐压性，并且可以在高流速的大尺寸色谱柱中使用。这是由于与传统的纤维类产品相比，Cellufine Phosphate 采用的是一种球形颗粒状。

### 理化性质

载体基质	纤维素
颗粒形状	球形和颗粒
离子交换容量（毫当量/毫升）	0.3-0.8
溶菌酶容量（毫克/毫升）	≥20
MW 排阻限（kD）	100（PEG-聚乙二醇）
pH 操作范围	5-12
pH 稳定范围	5-12
操作压力	< 2 巴(29 磅/平方英寸)
保存	20 % 乙醇悬浮液

### 色谱柱填料

1. 计算预期床尺寸所需体积。
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. 打开注入口，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% 的速率泵入洗脱缓冲液。
7. 床稳定后，关闭色谱柱出口。然后打开进样口，重新复位床顶部的端部单元。在注入样品前用 10 倍柱体积的吸附缓冲液平衡。

## 操作指南

### 一般操作

1. 用吸附缓冲液平衡色谱柱。

- 2.注入样品。
- 3.用数倍床容量的吸附缓冲液洗涤，以除去不结合的杂物。
- 4.用解吸缓冲液洗脱结合的溶质

### 建议缓冲剂

吸附缓冲液：10mM ~ 50mM 磷酸钠，中性 pH 值。根据应用情况，还可以使用其他缓冲离子，如三羟甲基氨基甲烷、醋酸盐。通常而言，吸附强度与 pH 值及离子强度成反比变化。稍微增加离子强度有助于除去附合松弛的杂物。另外，还可加入非离子型洗涤剂（Tween®20、Triton® X 等）以改善溶解性。

洗脱缓冲液：通常来说，采用由含有 1-2M 氯化钠或氯化钾的吸附缓冲液组成的流动相。可采用梯度洗脱法来测定准确的浓度。不连续梯度洗脱法是制备应用中最常用的方法。

### 样品制备与上样

在吸附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除去不可溶性物质。如有必要，使用渗析法、透滤法或脱盐色谱法置换样品缓冲液。

### 流速

针对 Cellufine Phosphate 的建议流速范围为 50 - 250 厘米/小时。

### 化学和物理稳定性

在 2 - 30°C 的温度下操作时，pH 值为 5 - 12。

### 再生与除热

通常用高离子强度（2.0-3.0 M）氯化钠对 Cellufine Phosphate 进行再生并除热。如果这还不够，用 3-10 柱体积的 0.2N 氢氧化钠在 2-10°C 条件下加强再生作用，然后用 2.0-3.0M 氯化钠进行洗涤，直至 pH 值降至 9 以下。再次用开头使用的缓冲液洗涤凝胶直至达到平衡。

### 存储

短期存储（不超过 2 周），溶液主体和色谱柱可以在 2 - 4°C 的中性缓冲液中贮存在 1M 的氯化钠中。长期存储，则可在相同条件下进行；但是，应在缓冲液中加入防腐剂（如 0.1% 福尔马林，0.05% 氯丁醇或 0.02% 叠氮化钠）。于 2 - 8°C 储存。切勿冷冻。

### 参考

*Nucleic Acids Research*, 2006, Vol.00, No.00 1-8

Rachel Macmaster, Svetlana Sedelnikova, Patrick J. Baker, Edward L. Bolt1, Robert G. Lloyd1 和 John B. Rafferty

《RusA Holliday 连接溶解酶：DNA 复合物结构——对选择性和特异性的见解》(*RusA Holliday junction resolvase: DNA complex structure—insights into selectivity and specificity*)

## 产品订购信息 (商品目录号)

介质类型	包装尺寸						
	微型柱		10 毫升	50 毫升	500 毫升	5 公升	10 公升
	1 毫升×5	5 毫升×1					
Cellufine 硫酸盐	19551	19515	19524	19545	19546	684 987 330	684 987 335

**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](mailto:cellufine@jnc-corp.co.jp)<http://www.jnc-corp.co.jp/fine/cn/cellufine/>