

疎水相互作用色谱填料

Cellufine Phenyl EX

技术数据表



JNC 株式会社

生命化学事业部

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

<http://www.jnc-corp.co.jp/fine/cn/cellufine/>

技术数据表

Cellufine Phenyl EX

用于除去抗体药物的聚集体

Cellufine Phenyl EX 是一种通过独有的配基修饰技术能高效去除抗体药物聚集体的色谱填料。将第 1 道工序的 ProteinA 色谱层析后的抗体试样流经通过 Cellufine Phenyl EX 时，抗体聚集体在获得补充的同时，多数的抗体单体会直接被回收至流穿部分。其能够用于有选择性地吸附此类杂质的流穿精纯。

Cellufine Phenyl EX 的基质

作为基质的纤维素是一种天然多糖，在纤维素内部具有晶体分子结构，有别于琼脂糖等非晶体多糖。因此，Cellufine 具有高度多孔性的细孔结构（图 1）。由于纤维素这种素材的特性，其具有机械强度高、分子在细孔内扩散优异的特征。

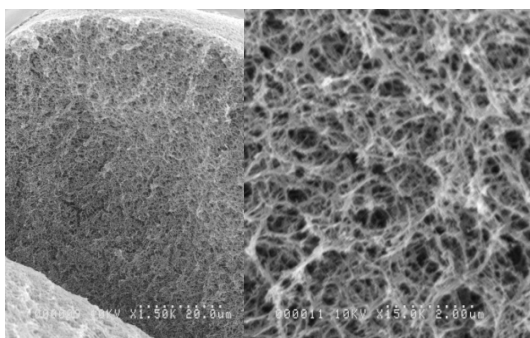


图1 Cellufine Phenyl EX基质的SEM照片

Cellufine Phenyl EX 的配基结构

Cellufine Phenyl EX 的配基结构如图 2 所示。

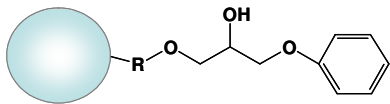


图 2 Cellufine Phenyl EX 的配基结构

Cellufine Phenyl EX 的特长

Cellufine Phenyl EX 的基本特征如表 1 所示。Cellufine Phenyl EX 是平均 90um 所交联的纤维素颗粒。产品在设计上能够用于生物医药的制造工序。JNC 现销售多种疏水性相互作用色谱填料。各种产品的差异如下表所示。

	Phenyl EX	MAX Phenyl	MAX Phenyl LS
基质	交联纤维素	高度交联纤维素	
粒径	40~130 μm		
配基	苯基 (Phenyl)		
BSA 吸附量 (mg/ml)	13	14	6
BSA 洗脱效率 (%)	30	35	65
操作压力	< 0.2 MPa	< 0.3 MPa	
pH 稳定性	pH 2~13		
保存方法	20 %乙醇、浆液状		

表 1 各种苯介质的特长

Cellufine Phenyl EX 的流速特性

Cellufine Phenyl EX 能够以高流速使用。该特性对于生物医药厂家而言是必不可少的特征。Cellufine Phenyl EX 的流速特性如下图所示（图 3）。所有的 Cellufine Phenyl EX 都具备实际制造时可操作的流速特性。

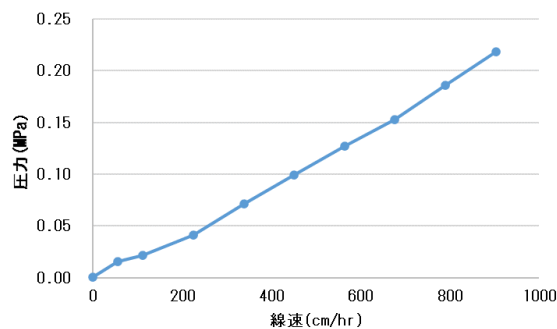


图 3 Cellufine Phenyl EX 的流速特性

层析柱：内径 2.6 cm x 高 19.3cm

流动相：纯水、23~25 °C

以压缩系数 1.35 装填。这里所示的是除去系统压力后的树脂所承受的压力。

模型蛋白的分离行为

疏水相互作用色谱的最佳配基量（即：疏水性强度）会因用途而异。图 4 所示的是 Cellufine Phenyl EX、Cellufine MAX Phenyl 的蛋白质分离行为。从该结果可知蛋白质的吸附强度为 Cellufine Phenyl EX > MAX Phenyl。

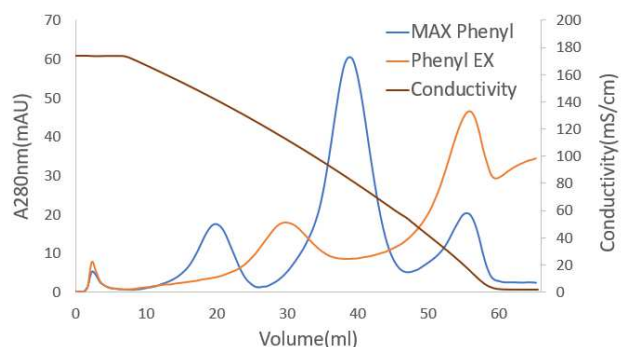


图4 模型蛋白的分离行为

层析柱：内径6.6 mm × 高50 mm

缓冲液A：10 mM磷酸缓冲液(pH 7) + 1.5 M硫酸铵

缓冲液B：10 mM磷酸缓冲液(pH 7)

蛋白质：核糖核酸酶 A、溶菌酶、糜蛋白酶原 A

抗体聚集体的纯化

Cellufine Phenyl EX 是最适于采用流穿模式去除单抗聚集体的色谱介质。通过 ProteinA 介质使用纯化后的单克隆抗体去除了抗体聚集体（图 5）。

Cellufine Phenyl EX 具有低导电性和较强的聚集体去除性的特点。本次使用的试样的导电性调整为 6 mS/cm。因此，即使是通常的疏水相互作用色谱填料，也能够抑制因高盐浓度造成的配管腐蚀、缓冲液析出等问题。

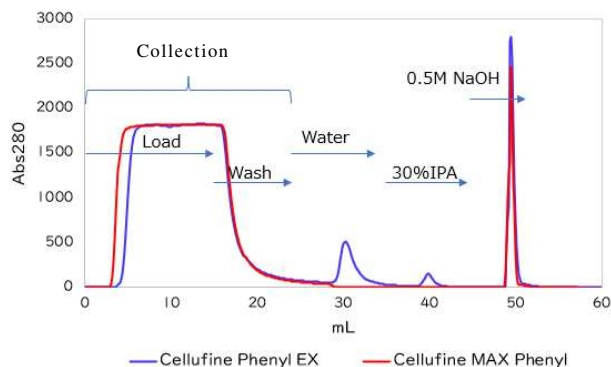


图 5 去除单抗聚集体

层析柱：1 mL Mini-Column

流速：滞留时间 4 分钟 (75cm/h)

试样：纯化后 mAb 6.6 mg/mL, pH6, 6 mS/cm

抗体负载量：93 mg_mab/mL_cv

平衡化及清洗：20mM AcOH-Tris + NaCl, pH6, 6 mS/cm

介质	聚集体量 (层析柱前) [%]	聚集体量 (回收部分) [%]	抗体回收率 [%]
Phenyl EX	3.6	0.4	87
MAX Phenyl		1.3	99

表 2 Phenyl EX 层析柱后的抗体聚集体量的变化

如表 2 所示，虽然单抗聚集体存在 3.6%，但是流经通过 Cellufine Phenyl EX 后降至 0.4%。

反复使用

Cellufine Phenyl EX 能够反复使用。定置清洗使用在 0.5 M 氢氧化钠中加入 30 %异丙醇的清洗液。通过使用适当的清洗液进行定置清洗，即使反复使用 60 次后吸附性能也未发生变化（图 6）。

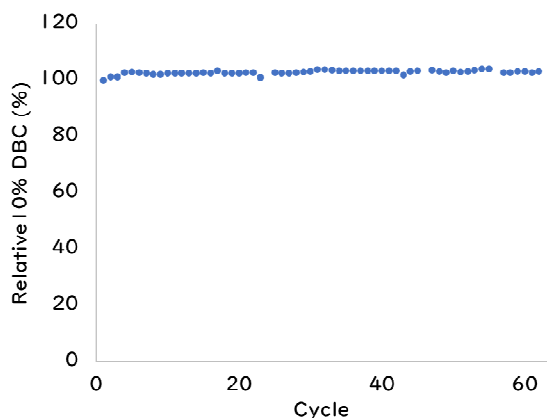


图 6 反复使用后的性能变化

层析柱：1 mL Mini-Column

试样：人丙种球蛋白 2 mg/mL、平衡缓冲液

平衡：20 mM 磷酸缓冲液+ 0.5 M 硫酸铵, pH7.0

洗脱：20 mM 磷酸缓冲液, pH7.0

定置清洗：0.5M NaOH+30% IPA (10 CV、暴露时间：20 分钟)

化学稳定性

纤维素作为具有化学和物理稳定性的天然化合物而广为人知。由于 Cellufine 是从纤维素中提取出来的，所以它对化学药品、酸性、碱性也很稳定。

可使用的化学药品等

- ✓ 乙醇 (70%)
- ✓ 异丙醇 (30%)
- ✓ 盐酸胍 (6M)
- ✓ 尿素 (6M)
- ✓ 氢氧化钠 (0.5M)
- ✓ 表面活性剂
- ✓ 高压釜 (121 °C, 20分钟)

储存方法

将使用后的填料定置清洗后，置换成 20 %乙醇，在 2-25℃ 温度条件下保存。长期储存时，推荐采用 4℃ 左右的冷藏保存。

订购说明

产品名	容量	目录编号
Cellufine Phenyl EX	1ml x 5 (Mini-Column)	22000-51
	5ml x 5 (Mini-Column)	22000-55
	100 ml	22000
	500 ml	22001
	5 lt	22002
	10 lt	22003
Cellufine MAX Phenyl	1ml x 5 (Mini-Column)	20700-51
	5ml x 5 (Mini-Column)	20700-55
	100 ml	20700
	500 ml	20701
	5 lt	20702
	10 lt	20703
Cellufine MAX Phenyl LS	1ml x 5 (Mini-Column)	20800-51
	5ml x 5 (Mini-Column)	20800-55
	100 ml	20800
	500 ml	20801
	5 lt	20802
	10 lt	20803

关于购买与技术支持的服务窗口

(北美)

JNC America Incorporated
 555 Theodore Fremd Avenue, Suite
 C-206
 Rye, NY 10580 USA
 TEL: 914-921-5400
 FAX: 914-921-8822
 E-mail: cellufine@jncamericany.com

(日本、亚洲、其他)

JNC 株式会社
 生命化学事业部
 邮编: 100-8105
 东京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号
 新大手町大楼 9 楼
 Tel: +81-3-3243-6150
 Fax: +81-3-3243-6219
 E-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp