

操作说明

疏水层析介质

Cellufine MAX Phenyl / MAX Phenyl ILS

简介

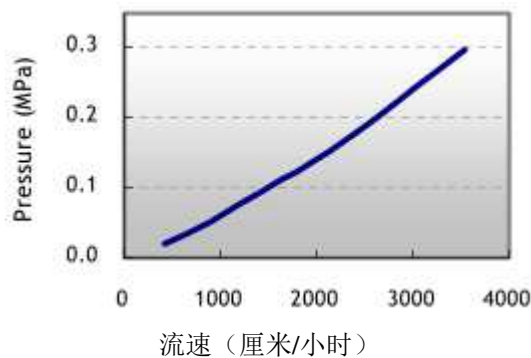
Cellufine MAX Phenyl 用于疏水蛋白质的色谱分析。许多蛋白质具有疏水氨基酸残基，可与 Phenyl 官能团相互作用。影响这种疏水性相互作用的因素包括盐浓度、温度、pH、有机溶剂和表面活性剂。蛋白质吸附通常发生在高离子浓度，而在低盐浓度洗脱。这与离子交换色谱分析法相反，具有互补的分离优势。

理化性质

	Cellufine MAX Phenyl	Cellufine MAX Phenyl ILS
载体基质	高交联纤维素	
颗粒形状	球形	
颗粒直径（微米）	大约 40-130	
配体类型	Phenyl	
BSA 含量（毫克/毫升）	14	6
BSA 洗脱效率（%）	40	90
多克隆免疫球蛋白 G 10% DBC（毫克/毫升）	31	19
MW 排阻限（kD）	1000	
pH 稳定范围	2-13	
操作压力	<0.3MPa	
保存	20% 乙醇悬浮液	

流压特性

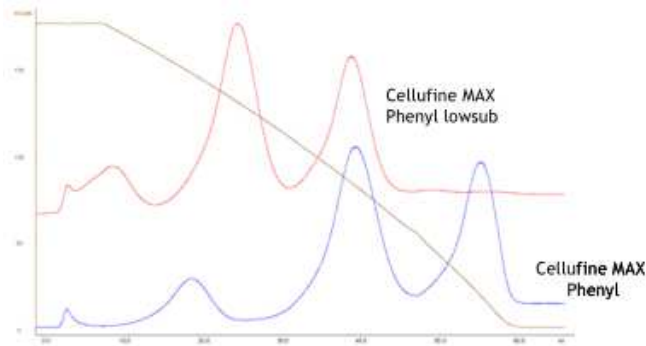
Cellufine MAX Phenyl 产品具有优越的流压性能



层析柱：2.2 厘米 直径×20cm L
 温度：24±1℃
 流动相：水

模型蛋白保留

下图显示了 Cellufine MAX Phenyl 的分离特性。Cellufine MAX PhenylLS 与标准 MAX Phenyl 相比，配体密度更低。



层析柱：6.6 厘米 直径×5cm L
蛋白质：核糖核酸酶 A、溶菌酶、 α -Chymotrips inogen A
洗脱：10 mM PB (pH7.0) 1.5 → 0 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 梯度

装柱

1. 计算需要的床体积。
2. 在 pH 7.0, 50mM 磷酸钠, 1M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 中, 制备 40% - 60% (v/v) 悬浮液。
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 20-30% 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

一般操作

用 2-5 柱体积洗脱缓冲液（低盐度）平衡色谱柱, 再用同样的上样缓冲液洗涤。传统的上样缓冲液为 50mM 磷酸钠, pH 7.0, 含有 0.5 - 2.5 M Na_2SO_4 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 或 NaCl 。吸附强度与盐浓度、pH 值和温度呈函数关系。通常来说, 浓度越高约有利于吸附。然后通过降低盐浓度来实现解吸（洗脱）。了解更多信息, 请参阅参考资料。

样品制备与上样

在上样缓冲液中制备样品。可能需要过滤以去除不溶性物质。如有必要, 缓冲液交换可采用渗滤或脱盐色谱法进行。蛋白质吸附与回收会随着装柱不同而出现差异。通常, 就结合

力而言，Cellufine MAX Phenyl>MAX Phenyl LS>Butyl。样品(在上样缓冲液中制备)在上样缓冲液洗涤后应用。上样后，用 5 柱体积的上样缓冲液冲洗以除去未结合物。随后，洗脱结合产物即可。

流速与洗脱

针对疏水性 Cellufine MAX 介质的建议流压不小于 0.3MPa。一般来说，在此范围内以低流速操作最适合结合与洗脱，而较高的流速适合洗涤与再生。

用低浓度盐（例如低于 0.5M）进行分步或梯度洗脱可实现对结合物解吸。使用离液剂（例如 KSCN）、表面活性剂（如辛基糖苷、CHAPS、Triton®X、CHAPS 或 Tween®）、变性剂（如盐酸胍、尿素、乙醇）可提高紧密吸附蛋白质的回收率。

化学和物理稳定性

在室温下操作时，pH 为 2- 13。在大多数盐(NaCl, (NH₄)₂SO₄ 等)和大多数洗涤剂（SDS, Tween 等）以及其他化学物质（70%乙醇、30%异丙醇、6M 盐酸胍和尿素）中稳定。该产品可用 0.2 N 氢氧化钠清洗。

可在 121°C、中性 pH 条件下，在悬浮液中可高温高压杀菌 30 分钟。

再生

用 2-5 个床体积 0.5N NaOH 冲洗层析柱。在某些情况下，可能额外需要 2 – 5 个床体积的 70% EtOH/ 30% DIW /0.1 M AcOH 进行冲洗，然后用蒸馏水去除吸附的脂。

存储

短期存储（不超过或 2 周），溶液主体与色谱柱可以在室温下贮存在 2M 的(NH₄)₂SO₄ 或 0.05N NaOH 中。长期存储，应在 25°C 或更低温度，存放在含有 0.02%叠氮化钠或 20%EtOH 的中性缓冲液中。切勿冷冻。

贮存期：

自生产之日起 5 年期

参考

1. Harris, E.L.V. and Angal, S., 《蛋白质纯化方法：一种实用的方法》(*Protein Purification Methods: A practical Approach*)。纽约：牛津大学出版社 (Oxford University Press), 1989 年。
2. Janson, J.C. 和 Ryden, L. 《蛋白质纯化：原理、高分辨率方法与应用》(*Protein Purification: Principles, High Resolution Methods and Applications*) 第 2 版。纽约：约翰威立出版有限公司 (John Wiley & Sons, Inc.) 1998 年。

产品订购信息 (商品目录号)

介质类型	包装尺寸					
	微型柱 1 毫升×5	微型柱 5 毫升×5	100 毫升	500 毫升	5 公升	10 公升
Cellufine MAX Phenyl	20700-51	20700-55	20700	20701	20702	21103
Cellufine MAX PhenylLS	20800-51	20800-55	20800	20801	20802	20803

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

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