

疏水相互作用层析填料

Cellufine MAX Butyl HS

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

电子邮箱: cellufine@jnc-corp.co.jp

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

技术数据表

CellufineMAX Butyl HS

Cellufine MAX Butyl HS 是将丁基固定在表面的疏水相互作用层析填料。与以往的 MAX BUTYL 相比，实现了丁基的高浓度固定。采用了尤其适合多糖疫苗纯化的最佳设计。

高流速型的填料

Cellufine MAX 是能够在高流速条件下使用的 Cellufine 层析填料。通过 JNC 独创的卓越的交联技术，设计了能够在高流速条件下使用的具有优异牢固性的填料。

Cellufine MAX 的底物载体

Cellufine MAX Butyl HS 的原料是纤维素，纤维素属于天然多糖，但是与具备非晶体结构的琼脂糖等不同，拥有独特的晶体结构。因此，Cellufine 拥有独特的细孔结构（图 1）。Cellufine MAX 系列拥有所有 Cellufine 系列之中最大的细孔尺寸。由于这些基质特点，具有机械强度高、细孔内的分子扩散性能优异的特征。

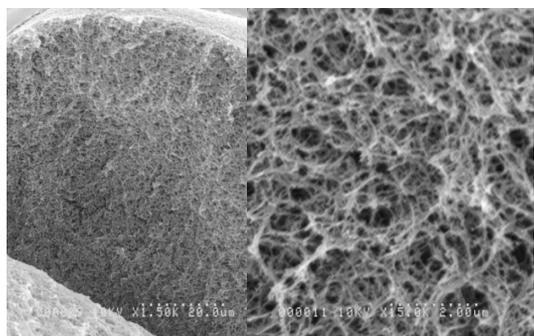


图1 CellufineMAX基质的SEM照片

Cellufine MAX Butyl HS 的配体结构

Cellufine MAX Butyl HS 的配体结构如图 2 所示。

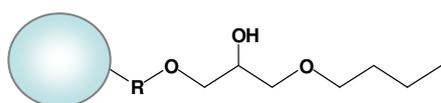


图 2 CellufineMAXButyl HS 的配体结构

Cellufine MAX Butyl HS 的特点

Cellufine MAX Butyl HS 的基本特征如表 1 所示。填料是平均粒径为 90um 的高度交联的纤维素颗粒。

Cellufine MAX Butyl HS 的设计确保其能够用于生物医药品的制造流程。本公司推出了多款拥有丁基的层析填料产品。各款产品的特点比较如表 1 所示。

	MAX Butyl	MAX Butyl HS
底物载体	高度交联纤维素	
粒径	40~130 μm (平均 90 μm)	
配体类型	低浓度丁基	高浓度丁基
BSA 吸附量 (mg/ml)	≥9	≥13
BSA 溶出效率 (%)	≥70	≥36
操作压力	< 0.3 MPa	
pH 稳定性 (30℃, 1周)	pH 2~13	pH 2~13
化学稳定性	对常规使用的缓冲液表现稳定	
定置洗脱	1M NaOH	
保存液	20 %乙醇	

表 1 Cellufine MAX Butyl HS 的特点

Cellufine MAX Butyl HS 的流速特性

Cellufine MAX Butyl HS 能够在高流速条件下使用。对生物医药制造商来说，这是必不可少的特征。（图 3）显示了 Cellufine MAX Butyl(S) 的流速特性。虽然是高流速，仍然能够在低压下操作。由于这一特征，其具备了可以在实际制造过程中操作的流速特性。

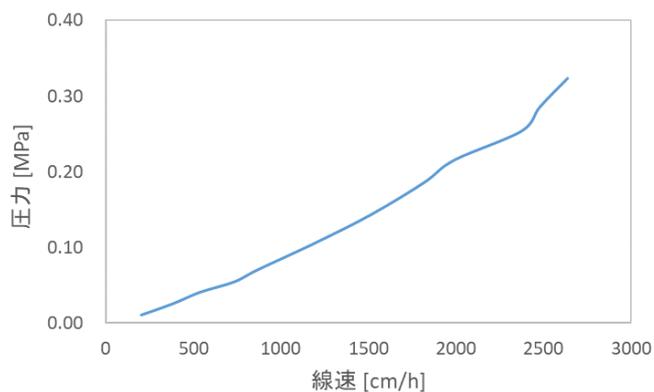


图3 Cellufine MAX Butyl HS 的流速特性

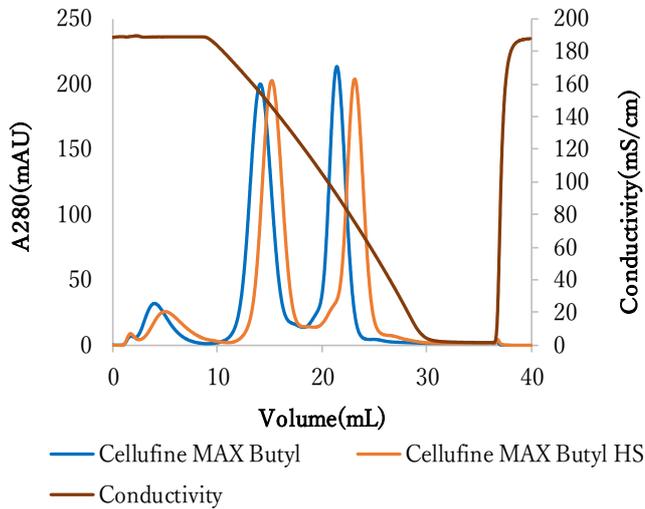
色谱柱：内径2.2 cm x 高度20 cm)

流动相：纯化水，24℃

Cellufine MAX Butyl HS 蛋白质的分离性

Cellufine MAX Butyl HS 采用了确保目的物质高度分离的设计。图 4 显示了 Cellufine MAX Butyl 及 Cellufine MAX Butyl HS 的蛋白质的分离过程。由此结果可知蛋白质的吸附强度是 MAX Butyl HS > MAX Butyl。

图4 模型蛋白质的分离特性



色谱柱: 6.6 mm ID x 30 mm (1.0 ml)
 缓冲液 A: 10 mM 磷酸钠, 1.5 M 硫酸铵, pH 值 7.0
 缓冲液 B: 10 mM 磷酸钠, pH 值 7.0
 蛋白质: 核糖核酸酶 A, 细胞色素 C, 溶菌酶

应用事例：多糖疫苗的纯化

Cellufine MAX Butyl HS 采用了最适合多糖疫苗纯化的设计。本文将介绍根据 *Streptococcus pneumoniae* 血清型 19F (ATCC49619) 纯化荚膜多糖的实施方案。

试样制备

Streptococcus pneumoniae 血清型 19F (ATCC49619) 接种到羊血琼脂培养基内, 在厌氧条件下培养 16 小时后, 再接种到 2000mL 的 Brain Heart Infusion 培养基内, 并在 37℃ 下培养 20 小时。在培养液中添加 10% 的脱氧胆酸钠, 在 37℃ 下培养 16 小时, 促使溶菌。实施离心分离 (12,000 rpm, 15 分钟, 4℃), 并回收上清液。再用 0.45 μm 的醋酸纤维素膜 (Cellulose Acetate Membranes) 过滤器过滤该上清液。通过超滤 (Vivaflow 200, MilliQ, MWC0 100k) 浓缩滤液。

在供试品中添加相当于 50% 饱和溶解度的硫酸铵, 在 4℃ 下培养 16 小时。通过离心分离 (12,000 rpm, 15 分钟, 4℃) 清除结晶颗粒 (pellet), 对采用 0.2 μm 的滤膜过滤器过滤后的溶液实施层析用试样上样。

层析纯化

使用 Cellufine MAX Butyl HS, 按照以下条件实施了层析纯化。

工序	溶液	容量
平衡	缓冲液 B	5 CV
试样上样	试样溶液	40 CV
溶出 1	缓冲液 A	10 CV
溶出 2	超纯水	20 CV
洗脱	缓冲液 A	5 CV
定置洗脱	0.5M NaOH 溶液	5 CV
平衡	超纯水	20 CV

色谱柱: 6.7 mmID x 30 mm (1.06 mL)
 流速: 0.212 mL/min (RT 5 min, 36cm/hr), 仅平衡 1 mL/min
 缓冲液 A: 10 mM 磷酸钠, pH7.0
 缓冲液 B: 10 mM 磷酸钠, pH7.0, 2.0 M 硫酸铵

纯化结果

使用蒽酮-硫酸法对多糖量进行定量。通过采用 Protein assay kit (Bio-Rad) 的 Bradford 法对蛋白量进行定量。使用 BioSpec nano (Shimadzu) 测量 260 nm 的吸光度, 按照 1 AU=50 μg/mL 计算核酸量。

	多糖 μg/mL	多糖 回收率%	多糖 纯度%	蛋白质 μg/mL	核酸 μg/mL
上样液	726	-	46	73	772
纯化后	518	89	54	0	436

化学稳定性及定置洗脱

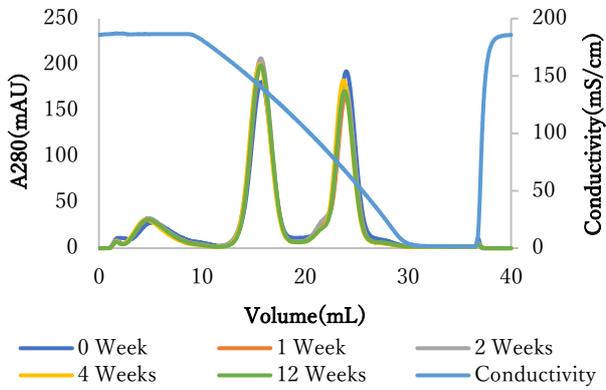
纤维素作为一种理化性质稳定的天然化合物被广为人知。Cellufine 源自纤维素, 因此对化学药剂、酸性、碱性均显示稳定性。能够将 0.5M~1.0 M NaOH 水溶液用于 Cellufine MAX Butyl HS 的定置洗脱 (CIP)。洗脱后将使用后的填料保存在 20 % 的乙醇内, 确保环境温度为 2-25℃。

能够使用的化学药剂等

- ✓ 乙醇 (70%)
- ✓ 异丙醇 (30%)
- ✓ 盐酸胍 (6M)
- ✓ 尿素 (6M)
- ✓ NaOH (0.5M)
- ✓ 表面活性剂
- ✓ 高压灭菌 (121℃, 20 min)

重复使用性

将 Cellufine MAX Butyl HS 浸渍在 1 M NaOH 中，然后评价使用模型蛋白质的分离特性。经过 12 周后分离特性没有变化，可知即使反复实施定置洗脱，分离性能也不会发生变化。



色谱柱: 6.6 mm ID x 30 mmL (1.0 ml)

缓冲液 A: 10 mM 磷酸钠, 1.5 M 硫酸铵, pH 值 7.0

缓冲液 B: 10 mM 磷酸钠, pH 值 7.0

蛋白质: 核糖核酸酶 A, 细胞色素 C, 溶菌酶

图5 1 M NaOH浸渍后的模型蛋白质的分离特性

订购说明

产品名称	包装尺寸	目录编号
Cellufine MAX Butyl HS	1ml x 5 (Mini-Column)	22200-51
	5ml x 5 (Mini-Column)	22200-55
	100 ml	22200
	500 ml	22201
	5 lt	22202
	10 lt	22203
Cellufine MAX Butyl	1ml x 5 (Mini-Column)	21100-51
	5ml x 5 (Mini-Column)	21100-55
	100 ml	21100
	500 ml	21101
	5 lt	21102
	10 lt	21103

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
 〒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