

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/>

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。

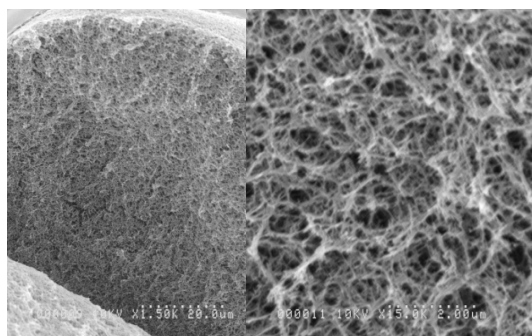


图1 CellufineMAX基质的SEM照片

Cellufine MAX Butyl HS 的配体结构

Cellufine MAX Butyl HS 的配体结构如图2所示。

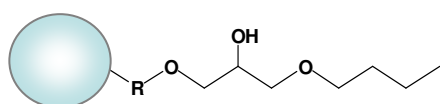


图2 CellufineMAXButyl HS 的配体结构

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。

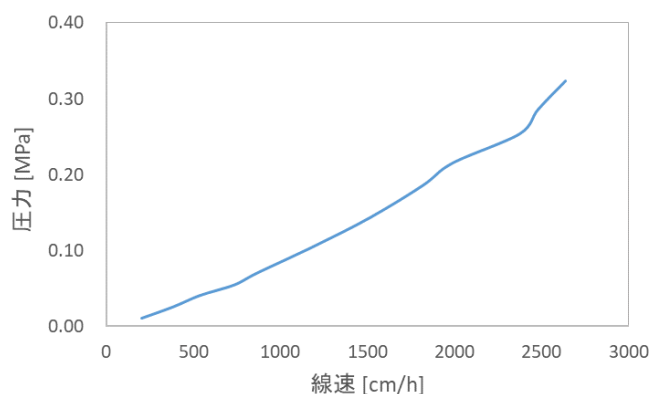


图3 Cellufine MAX Butyl HS的流速特性

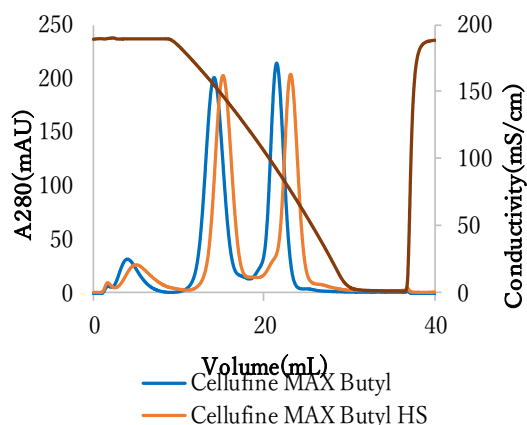
色谱柱：内径2.2 cm x 高度20 cm)

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 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

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 pneumonia* 血清型 19F (ATCC49619) 纯化荚膜多糖的实施方案。

试样制备

Streptococcus pneumonia 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 (Shimazu) 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

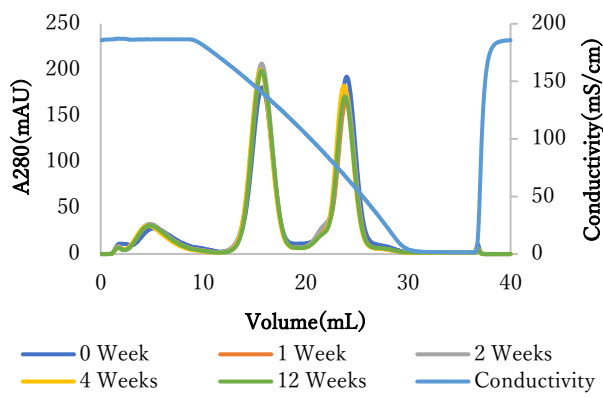
纤维素作为一种理化性质稳定的天然化合物被广为人知。Cellufine 源自纤维素，因此对化学药剂、酸性、碱性均显示稳定性。能够将 0.5M~1.0 M NaOH 水溶液用于 Cellufine MAX Butyl HS 的定置洗脱 (CIP)。洗脱后将使用后的填料保存在 20 % 的乙醇内，确保环境温度为 2-25℃。

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