

Cellufine MAX HIC 装柱

Cellufine MAX HIC 是一种新一代纤维素树脂，采用新型专利交联技术对球形纤维素颗粒进行交联。该工艺使球体结构具有刚性，可以在生产规模应用所需的高线速度流速下运行。JNC 提供 Cellufine MAX Butyl 和 Cellufine MAX Phenyl/ PhenylLS(低替代)化学。该 HIC 系列可用于一系列疏水相互作用的应用，如抗体精制的蛋白 A 捕获和去除蛋白团聚体，是基于一种高度稳定的纤维素颗粒结构，适用于小规模、中试和全生产规模的蛋白纯化工作流程。

使用流量适配器的装柱流程（直径达 30 厘米的色谱柱）

- 1) 当柱体积 < 1 升时；将目标柱体积(CV)所需的足够悬浮液倒入过滤器漏斗(玻璃制)中，用至少 5 个柱体积的水洗涤 3 次，以除去存储液。如有必要，如果装柱缓冲液与水不同，则重复上述步骤。
- 2) 当柱体积 > 1 升时；将存储缓冲液从容器中沉淀的树脂上方倒出，用水替换。然后重新悬浮树脂，让其再次沉淀，冲洗掉存储缓冲液。重复 2-3 次或考虑在存储缓冲液中装柱并即时清洗色谱柱。
- 3) 最后清洗完后，加入足够的装柱缓冲液，将树脂悬浮在 50-60% (v/v) 的悬浮液中。
- 4) 将部分悬浮液倒入 50 毫升的量筒中，静置过夜或至少 4 小时。测量重力沉降床的床高(体积)，据此计算悬浮液率；% = 重力沉降床体积 / 总悬浮液体积
- 5) 调整到 50% (v/v) 树脂悬浮液浓度
- 6) 用下式计算填充色谱柱所需悬浮液的体积； $50\% \text{ 悬浮液体积} = (\text{目标柱体积 [CV]} \times 2) \times (\text{压缩因子 Cf})$
 压缩因子 Cf = 重力沉降 / 填充床高
 例如，若需要 100 毫升柱体积，需要 $(100 \times 2) \times 1.15 = 230$ 毫升 100 悬浮液，可得树脂压缩系数为 1.15。
- 7) 将底部流量适配器组装到色谱柱上。准备好底部筛板组件，用装柱缓冲液从大直径色谱柱的注射器或泵中去除空气。在色谱柱底部留大约 1 厘米。
- 8) 如有必要，在色谱柱的顶部添加一个床高的适配器，以适应全部体积的悬浮液。
- 9) 关闭色谱柱的底部出口。
- 10) 将悬浮液一次倒入色谱柱内，避免空气滞留在树脂悬浮浆内。
- 11) 打开底部出口，让床开始沉降，直到树脂床上方出现 2-3 厘米的透明液体。
- 12) 停止出口流液，小心地用装柱缓冲液填满色谱柱，直到顶部，不要干扰沉降树脂床。
- 13) 启动上面步骤 6 中所述的流量适配器。
- 14) 将顶部流量适配器组装到色谱柱上，尽量减少色谱柱顶部的滞留气泡。
- 15) 用装柱缓冲液以 200cm / h 开始对树脂床进行流通 30-60 分钟。
注意：在这种流速下（为保证稳定填床，而高于色谱柱正常运行的流速），色谱柱背压力*应该在 0.25 到 0.30MPa 之间。
 *此为在色谱柱中填充树脂时的压降。
 当同一尺寸的空缓冲填充柱处于同一直线位置时，应该设定系统的背压限额。最好在色谱柱的进口端用仪表测量背压。
 这是一种比正常运行时更高的流速，以保证床层填料稳定。
- 16) 床高稳定，关闭出口，从塔顶开始流通（不要去掉流量适配器），然后慢慢地将顶部流量适配器向下移动，将装柱缓冲液从色谱柱的顶部换出。将顶部的适配器取下，以便与沉积的树脂床接触。

- 17) 重新连接上面的流量适配器，打开出口，以 30-800cm/h 流速重新开始。如果床沉积下来，并远离顶部适配器，就向下调整顶部适配器，以适应新的床高。
- 18) 在最终床高，计算色谱柱体积。如果床体体积高于预期，可以通过降低顶部适配器施加轴向压缩。最终色谱柱应该接近目标。如果体积低于预期，则由于树脂的压缩因子可能高于 1.15，原来的悬浮液体积可能更小，或者树脂在流动过程中压缩得更多。
- 19) 以 150 厘米/小时的流速注入少量(柱体积的 1%)未保留物质(2%丙酮或 2 M NaCl)，通过测量如附录 1 所示的 HETP 和峰对称因子(A_s)来检查和评估装柱状态。由在 280nM 的峰值监测结果或通过 NaCl 电导率计算对称因子、 N (#理论塔板数/ M 柱长度)。
- 20) 填料树脂床可调流量后柱填料。在 0.25- 0.3 MPa 的压力上行流动中运行 30 - 60min，然后在压力为 0.25- 0.3 MPa 的下行流动中运行 30 - 60min。这一过程可能导致树脂填料更均匀，或可用于柱清洗或基 CIP 消毒，以去除任何可能在柱头积聚的物料。对于新色谱柱，这是可选的，但是对于经过 5-10 次重用之后的填充柱，建议使用此选项。

用 Cellufine MAX HIC- Butyl 流动填充一支 10 厘米内径色谱柱例子

- 色谱柱：10 厘米内径×50 厘米长
- 装柱床高：23 厘米
- 装填缓冲液：50%的悬浮液，0.3 MPa 的背压*填充直到床层高度稳定。
- 评估树脂压缩因子 C_f 为 1.15、1.18、1.20、1.22 和 1.25in。
- 流动相：0.5M NaCl
- 注入：1M NaCl (柱体积 1%)

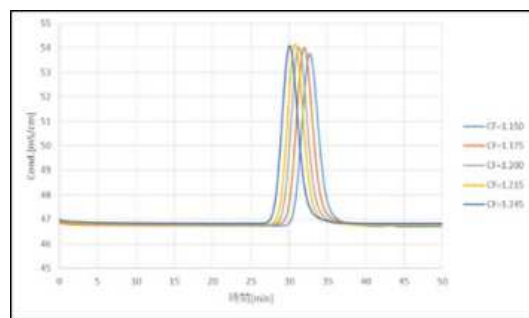
测量压力对柱填料性能的影响，如表 1 所示。下面的图 1 显示了洗脱峰的叠加。

表 1. 在一定压力范围内用 Cellufine MAX HIC- Butyl 填充柱的效率

压缩因子	N (m^{-1})	A_s	RPH
1.150	5100	1.28	2.17
1.175	5200	1.22	2.15
1.200	5100	1.23	2.17
1.215	5100	1.24	2.17
1.245	5000	1.25	2.21

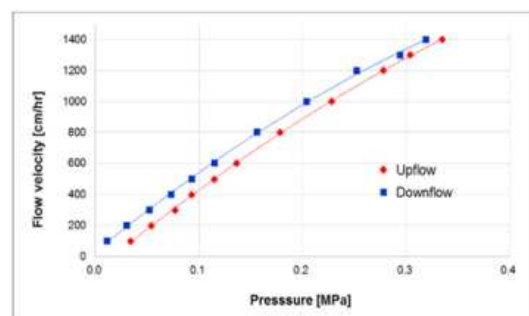
粒径：90 微米

图 1. 色谱柱的洗脱峰叠加



在下图 2 中，显示了 Cellufine MAX HIC- Butyl 填充床上下流动的压力/流速特性

图 2. Cellufine MAX HIC- Butyl 填充 10cm 内径色谱柱*的压力/流速曲线



*床高 19.8 厘米

用 Cellufine MAX HIC- Phenyl 与 PhenylLS (低代替物) 流动填充一支 10 厘米内径色谱柱例子

- 色谱柱：10 厘米内径×50 厘米长
- 装柱床高：19.8 与 21.9 厘米

- 装填缓冲液：50%的悬浮液，在 0.20、0.25 与 0.3 MPa 背压*填充 30 分钟直到床层高度稳定。
- 最终树脂压缩因子 C_f 为 1.10。
- 流动相：0.5M NaCl
- 注入：1M NaCl（柱体积 1%）
测量压力对柱填料性能的影响，如下表 2 所示。

表 2.在一定压力范围内用 Cellufine MAX HIC-Phenyl 填充柱的效率

压力 (MPa)	N (m^{-1})	A_s	RPH *
0.30	4200	1.25	2.65
0.25	4200	1.31	2.62
0.20	4100	1.35	2.72

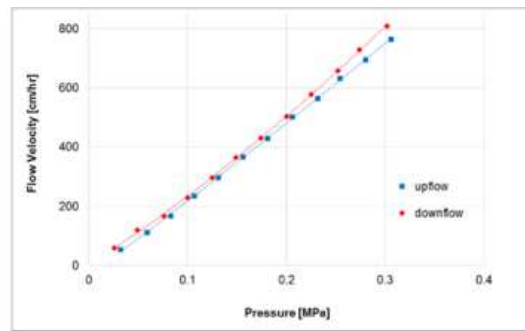
*粒径 90 微米

图 3 所示为 Cellufine MAX Phenyl(A 组)和 MAX PhenylLS (B 组)在 10 cm 内径色谱柱中压力/流量曲线，在 0.3 MPa 下填充 30 min，最后进行树脂压缩。 C_f 为 1.10。
图 3.在 10 cm 内径色谱柱中填充 Cellufine MAX HIC 的压力/流量曲线

总结

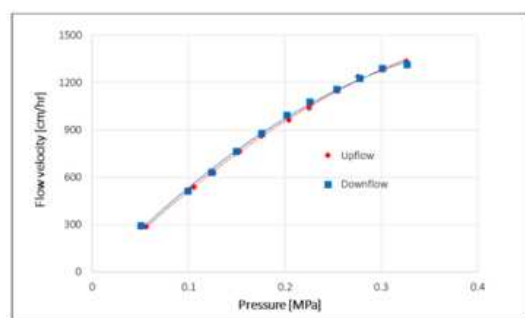
本技术说明描述了一种最优的方法，可以成功地将 CellufineMAX HIC 亲和树脂填充到直径 10 厘米、床层高度 20 厘米的色谱柱。采用树脂压缩因子 C_f 在 1.15 ~ 1.25 范围内，对填充床进行轴向压缩，得到的柱具有良好的峰值对称性（对称因子在 1.22 ~ 1.35 范围内）。压力/流体曲线显示，在高达直径 10 cm 的 Cellufine MAX HIC 树脂柱中，当使用 MAX Phenyl 流速为 600 cm/h 时，当使用 MAX Phenyl (LS) 流速为 1200 cm/h 时，背压力 < 0.3 MPa。在本技术说明里描述的所有例子中，均使用水作为填料溶液，简化了高效色谱床的注入过程。新设计的纤维素基质微球体具有优越的机械稳定性，可以很容易地流装各直径大小的 Vantage 或 BPG 生物生产色谱柱。本技术说明中描述的填装过程是可称量的，并表明 Cellufine 树脂系列产品能够在具有可移动流量适配器的硬件中进行手动流动填装和轴向压缩。

A 组，用 Cellufine MAX Phenyl 填装



床高 19.8 厘米（压缩因子 1.10）

B 组，用 Cellufine MAX Phenyl (LS) 填装



床高 21.9 厘米（压缩因子 1.05）

Cellufine MAX HIC Phenyl，可填装 10 厘米内径色谱柱，床高 19.8 厘米，在装柱压力高达 0.3 MPa 的范围内，洗脱峰在 1.25 ~ 1.35 之间。这些填充床可以在不超过 0.3 MPa 压力限制的情况下，在两个方向上以 800(Phenyl)或 1200 厘米/小时(PhenylLS)的速度流动。

订购信息

说明	数量	产品编号
Cellufine MAX Butyl	1 mL x 5 (微型柱)	21100-51
	5 mL x 1 (微型柱)	21100-55
	100 mL	21100
	500 mL	21101
	5 L	21102
	10 L	21103
Cellufine MAX Phenyl	1 mL x 5 (微型柱)	20700-51
	5 mL x 1 (微型柱)	20700-55
	100 mL	20700
	500 mL	20701
	5 L	20702
	10 L	20703
Cellufine MAX Phenyl LS (低取代)	1 mL x 5 (微型柱)	20800-51
	5 mL x 1 (微型柱)	20800-55
	100 mL	20800
	500 mL	20801
	5 L	20802
	10 L	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/>