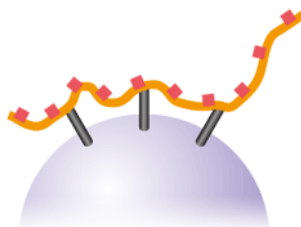


离子交换层析填料

# Cellufine MAX Q-hv

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: 03-3243-6219

电子邮箱: [cellufine@jnc-corp.co.jp](mailto:cellufine@jnc-corp.co.jp)

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

Cellufine MAX Q-hv 是一种强阴离子交换层析填料。使用对高度交联的颗粒实施表面修饰的底物载体。因此具有卓越的耐压性。设计的配体浓度确保 Cellufine MAX Q-hv 特别是对多糖疫苗的纯化有效。

Cellufine MAX Q 产品系列包括具有优异溶出性能的 Cellufine MAX Q-r，具有卓越吸附性能的 Cellufine MAX Q-h。Cellufine MAX Q-hv 在保持吸附性能的同时，采用了旨在改善诸如核酸和多糖、病毒颗粒这些大尺寸目标物质的溶出性的配体设计。因此，可以期望与以往的 MAX Q-r、MAX Q-h 有不同的分离行为。

### 以高流速、高吸附为特征的填料

Cellufine MAX Q-hv 是高流速型的 Cellufine。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。并且还采用表面修饰技术，大幅度提高了配体的利用效率。通过这种技术，实现了卓越的动态吸附性能。

### Cellufine MAX 的底物载体

Cellufine MAX Q-hv 的原料是纤维素，纤维素是一种具有独特的晶体结构的天然多糖，其特征与具有非晶体结构的琼脂糖不同。由于这个特征，如图 1 的 SEM 照片所示，纤维素具有很大的细孔。因此，纯化对象物质在细孔内快速扩散，表现出优异的吸附性能。

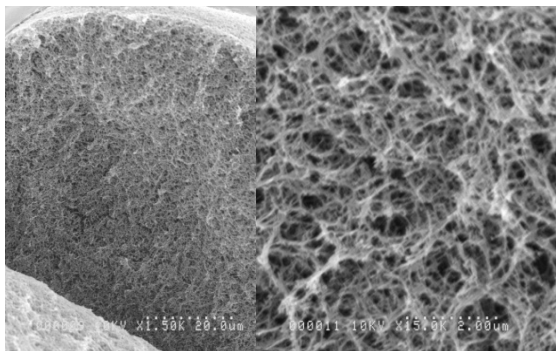


图1 底物载体的SEM照片

### Cellufine MAX Q-hv 的化学结构

Cellufine MAX Q-hv 的配体结构如图 2 所示。

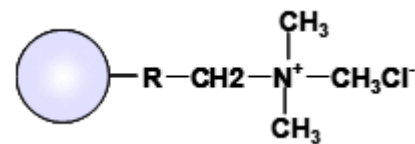


图2 Cellufine MAX Q-hv的配体结构

### Cellufine MAX Q-hv 的特点

基本特征如表 1 所示。所有 Cellufine MAX 离子交换层析填料的底物载体都采用葡聚糖修饰的平均粒径为 90um 的高度交联的纤维素颗粒。Cellufine MAX Q-hv 调整了离子交换容量、细孔尺寸等，确保最适合用于疫苗的主要成分多糖类和病毒颗粒的纯化。

|                     | MAX Q-r                                                | MAX Q-h   | MAX Q-hv  |
|---------------------|--------------------------------------------------------|-----------|-----------|
| 离子交换基团              | 强阴离子 / -N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> |           |           |
| 底物载体                | 葡聚糖修饰的高度交联纤维素颗粒                                        |           |           |
| 粒径                  | ca. 40 – 130 um (平均 90um)                              |           |           |
| 离子交换容量 meq/ml       | 0.10~0.20                                              | 0.13~0.22 | 0.04~0.07 |
| 操作流速                | 600 cm/h(0.3 MPa) I.D.30 cm-L20 cm、<br>流动相：纯化水 24 °C   |           |           |
| 动态吸附载量 BSA mg/ml    | > 110                                                  | > 180     | > 120     |
| 能够使用的 pH 值          | 2—12                                                   | 2—12      | 2—12      |
| pH 稳定性 (30° C, 1 周) | 2—12                                                   | 2—12      | 2—12      |
| 化学稳定性               | 对常规使用的缓冲液表现稳定                                          |           |           |
| 定置洗脱                | 1 M NaOH                                               |           | 0.5M NaOH |
| 保存液                 | 20 % 乙醇水溶液                                             |           |           |

表 1 Cellufine MAX Q-hv 的特点

### 高动态吸附载量与高回收率

Cellufine MAX Q-hv 是对多糖类的纯化很有效的强阴离子交换层析填料。Cellufine 产品系列包含多个种类的强阴离子交换层析填料，其中在多糖类的纯化方面，Cellufine MAX Q-hv 显示出高动态吸附载量与良好的回收率（表 2）。

|          | 动态吸附载量<br>[mg/mL] | 回收率<br>[%] |
|----------|-------------------|------------|
| MAX Q-hv | 22                | 109        |
| MAX Q-h  | 17                | 72         |
| MAX Q-r  | 9                 | 95         |

表 2 源自肺炎链球菌的多糖的吸附性能

使用经过部分纯化的源自肺炎链球菌的多糖，求出动态吸附载量与回收率。并求出穿透点为 20% 时的动态吸附载量。

#### 层析条件

色谱柱: 6.7 mmID×30 mmH (1.06 mL)  
流速: 0.212 mL/min (RT 5 min, 36 cm/h)  
吸附缓冲液: 50 mM 磷酸钠, pH6.0  
溶出缓冲液: 50 mM 磷酸钠 + 1 M NaCl, pH6.0

#### 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- NaOH 水溶液用于 Cellufine MAX Q-hv 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)
- ✓ 表面活性剂

#### 在定置洗脱液内的稳定性

Cellufine MAX Q-hv 在经常用于定置洗脱的 0.5 M NaOH 中表现稳定。浸渍 7 天后仍能保持性能 (表 2)。由该结果可知，如果在定置洗脱时设置 15 分钟的暴露时间，进行相当于 672 次的定置洗脱后仍能保持稳定。

| 保存天数 | BSA 吸附载量 (mg/mL) | 离子交换容量 (meq/mL) | N 元素 % |
|------|------------------|-----------------|--------|
| 0    | 155              | 0.06            | 0.9    |
| 7    | 146              | 0.05            | 0.9    |

表 2 0.5 M NaOH 浸渍后的稳定性

#### 应用事例：多糖疫苗的纯化

##### 试样制备

将肺炎链球菌 *Streptococcus pneumonia* 血清型 19F (ATCC49619) 接种到羊血琼脂培养基内，在厌氧

#### JNC CORPORATION

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℃)，回收上清液。并采用 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, MWCO 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，并对采用 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

1. 采用 Cellufine MAX Butyl HS 的第 1 阶段纯化  
操作方法请参考 Cellufine MAX Butyl HS 的使用说明书。
2. 采用 Cellufine MAX Q-hv 的第 2 阶段纯化  
使用 Cellufine MAX Q-hv，按照以下条件实施层析纯化。

| 工序   | 溶液           | 容量    |
|------|--------------|-------|
| 平衡   | 缓冲液 A        | 5 CV  |
| 试样上样 | 试样溶液         | -     |
| 洗脱   | 缓冲液 A        | 15 CV |
| 溶出   | 缓冲液 B        | 10 CV |
| 洗脱   | 缓冲液 A        | 10 CV |
| 定置洗脱 | 0.5M NaOH 溶液 | 10 CV |
| 平衡   | 超纯化          | 20 CV |

色谱柱: 6.7 mmID×30 mmH (1.06 mL)

流速: 0.424 mL/min (RT 2.5 min, 72 cm/hr)

缓冲液 A: 50 mM 磷酸钠, pH 值 6.0

缓冲液 B: 50 mM 磷酸钠, 1.0 M 氯化钠, pH 6.0

#### 3. 纯化结果

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

|     | 10%<br>DBC<br>mg/mL | 多糖<br>回收率 % | 多糖<br>纯度 % | 蛋白质<br>μg/mL | 核酸<br>μg/mL |
|-----|---------------------|-------------|------------|--------------|-------------|
| 上样液 | -                   | -           | 76         | 5.1          | 162         |
| 纯化后 | 6.4                 | 98          | 99         | N.D.         | 4           |

## 订购说明

| 产品名称               | 包装尺寸           | 目录编号     |
|--------------------|----------------|----------|
| Cellufine MAX Q-hv | 5 x 1 mL 迷你色谱柱 | 22100-51 |
|                    | 1 x 5 mL 迷你色谱柱 | 22100-15 |
|                    | 100 mL         | 22100    |
|                    | 500 mL         | 22101    |
|                    | 5 L            | 22102    |
|                    | 10 L           | 22103    |

## 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)

J N C 株式会社  
生活化学事业部  
〒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: 03-3243-6150  
Fax: 03-3243-6219  
E-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp