JNC 株式会社

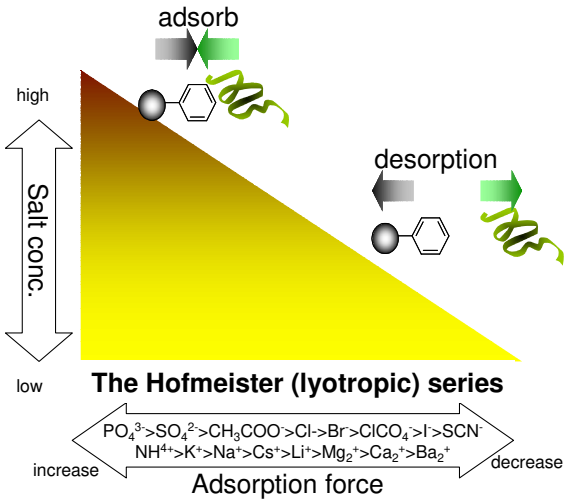
使用说明书

微型柱 Cellufine Phenyl EX

Cellufine™

1. 概要

Cellufine Phenyl EX 已经充填进微型柱，因此使用时非常简单。Cellufine Phenyl EX 在设计上是将抗体的凝集体、蛋白质、酶和多糖等高分子加以浓缩和精制。介质是在圆球状、物理强度很大的纤维素上附加苯基。Cellufine Phenyl EX 是一种在被交联的纤维素粒子上附加配体的填料。



层析柱

Cellufine 微型柱是在聚丙烯材质的管子上组合进超高分子量聚乙烯材质的滤网所构成。微型柱能够利用普通的 10 - 32UNF 规格的 fingertight 接头，用 1/16 英寸管子与层析系统连接。

表 1 微型柱的特点

层析柱体积	1 ml 或 5 ml
层析柱形状(i.d. x L)	6.7 mm x 30 mm (1 ml) 14.6 mm x 30 mm (5 ml)
配体	苯基
吸附量 (BSA)	13 mg/ml
粒径	ca. 90 μm
基底介质	交联纤维素粒子
最大压力	0.4 MPa (4 bar)
推荐流速	0.1 - 1.0 ml/min (1 ml) 0.1 - 5.0 ml/min (5 ml)
pH 稳定性	3 - 12
保存方法	置换为 20%乙醇，存放在阴暗处。

2. 操作指导

普通的使用方法

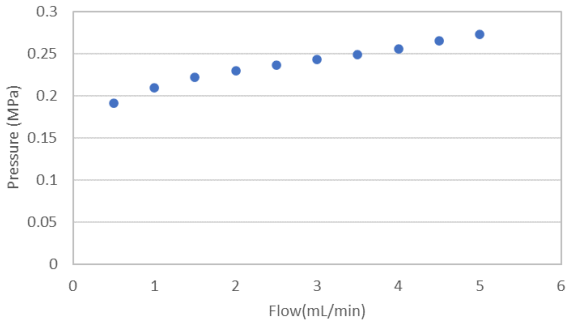
(1) 用吸附缓冲溶液将层析柱加以平衡。

(2) 将溶解在吸附缓冲溶液中的样品加载。

(3) 用吸附缓冲溶液多次清洗，以去除未吸附的杂质。

(4) 用溶出缓冲溶液将被吸附的目标物质溶出。

用 AKTA 系统（Cytiva 公司产品）测定了微型柱 Cellufine Phenyl EX 的流速特性。



设备：Akta avant 25

Flow Ristrictor FR-902:In line

流动相：水

温度：20-25℃

连接管道：ID 5mm x 20 cm

推荐缓冲溶液

吸附缓冲溶液:

1）作为通用疏水介质使用时

推荐含有浓度不会产生蛋白质沉淀的硫酸铵的缓冲溶液。离子能够使用磷酸、醋酸、三羟甲基氨基甲烷等各个种类。一般来说，蛋白质的吸附强度会与盐浓度的强度成正比地增加。出于减弱杂质结合的目的，也可以稍微降低一些缓冲溶液的盐浓度。非离子性的表面活性剂（Tween®20, Triton® X 等）也能提高杂质的溶出性。

2）以流过型方式使用于抗体凝集体的精制时

可以使用磷酸、醋酸、三羟甲基氨基甲烷等。根据要载荷的抗体溶液的情况，对 pH、导电度加以调整。Cellufine Phenyl EX 的导电度约为 5-15 mS/cm，能够吸附抗体凝集体。

溶出缓冲溶液:

1）作为通用疏水介质使用时

降低吸附缓冲溶液中添加的硫酸铵的浓度，即可溶出。最合适的盐浓度要通过梯度溶出，经预备研讨后加以确定。在分取层析阶段，一般采用阶梯方式使其溶出。如溶出不够充分，可以加入促溶剂或乙二醇。

2）使用于抗体凝集体的精制时

要溶出层析柱上吸附的抗体凝集体和夹杂物等杂质，可使用导电度在 5 mS/cm 以下的缓冲溶液或纯水。定置清洗方式可采用 0.5M NaOH, 30%异丙醇通液 10 CV。也可以使用 0.5M NaOH 和 30%异丙醇的混合液。

样品的准备

将样品溶解在吸附缓冲溶液中，使其浓度达到 1～20 mg/ml。不溶物可用离心分离方式或滤网加以去除。必要时，也可以用脱盐滤网、透析和 CellufineGH-25 等脱盐层析柱，更换缓冲溶液。

3. 精制方法

(1)通过液泵或针筒，用吸附缓冲溶液将层析柱加以置换。拆下入口处的插塞（层析柱上部），将液泵或针筒与层析柱连接。这时要注意防止空气进入层析柱。

(2)拆下层析柱出口的插塞。

(3)为了将层析柱内的保存液置换成吸附缓冲溶液，可用 10 个层析柱体积（ＣＶ）分量的吸附缓冲溶液进行通液，进行平衡。

(4)用液泵或针筒将样品加载在层析柱上。

(5)用吸附缓冲溶液通液 5～10 CV，进行清洗。

(6)用溶出缓冲溶液通液 5～10 CV，溶出蛋白质。（梯度溶出或阶梯方式溶出）

(7)用在 0.5 M NaOH 中加入 30 %异丙醇的清洗液进行定置清洗。清洗后要用吸附缓冲溶液再次进行平衡。

如用流过方式精制抗体，则需回收(4)和(5)中的层析柱通过液。

4. 再生方法和脱发热源

作为定置清洗方法，可用 0.5M NaOH, 30%异丙醇通液 10 CV。也可以使用 0.5M NaOH 和 30%异丙醇的混合液。清洗后要用吸附缓冲溶液进行清洗，以备下次操作使用。

5. 扩大使用

可以将 2 ～ 3 个微型柱联结起来使用。

6. 保存方法

用 5～10 CV の 20 %(v/v)乙醇水溶液置换层析柱。要采用冷藏方式存放。

注意: 为了防止微型柱干燥，应插紧端头插塞。

7. 参考文献

International Journal of Biochemistry & Cell Biology (2006) 38(4) pp 521-532
"Primary structure and properties of Mn-superoxide dismutase from scallop adductor muscle" Ikebuchi, Makoto; Takeuchi, *et. al.*

PDA Journal of GMP and Validation in Japan (2000) 2(1) pp 28-33
Purification of Recombinant Human Serum Albumin. Akinori SUMI,
et. al.

Lipids. (2000) 35(12) pp 1359-70.
Purification, characterization, and molecular cloning of group I phospholipases A2 from the gills of the red sea bream, Pagrus major. Iijima N, *et. al.*

J Biochem (Tokyo). (1998) 123(2) pp 219-25.
Purification and some characteristics of phosphatase of a psychrophile. Tsuruta H, *et. al*
.

Protein Expr Purif. (1995) 6(5) pp 679-84.
Overexpression and purification of the trimetric aspartate transcarbamoylase from Bacillus subtilis. Baker DP, *et. al.*

Biosci. Biotechnol., Biochem.(1993) 57(2) pp 177-80
Purification and characterization of Actium lappa L. (edible burdock) polyphenol oxidase

8. 新信息

如需进一步获取信息，可浏览 Cellufine 网页。

https://www.jnc-corp.co.jp/fine/cn/cellufine/

9. 订货信息

产品名	容量	产品目录 No.
微型柱 Cellufine Phenyl EX, 1 ml	5 x 1 ml	22000-51
微型柱 Cellufine Phenyl EX, 5 ml	5 x 5 ml	22000-55

10. 问询窗口

JNC 株式会社
生命化学事业部
东京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号
TEL：+81-3-3243-6150 Fax：+81-3-3243-6219
e-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp
web: https://www.jnc-corp.co.jp/fine/cn/cellufine/