

Cellufine™ 微型柱

Cellufine™ SPA-HC 树脂是用于快速筛查 rProtein A 抗体亲和力的易用预装微型柱。

Cellufine SPA-HC 树脂用于从细胞培养材料中捕获抗体。Cellufine 介质一种经新型碱稳定 rProtein A 亲和配体功能化的球形、刚性纤维素珠体。表 1 中总结了该微型柱的特性。

Cellufine 微型柱由聚丙烯管和超高分子量聚乙烯筛板制成。该类柱采用 10-32UNF 螺纹连接 1/16 英寸外径管，可以与色谱系统连接。

表 1. Cellufine 微型柱特性

柱体积	1 毫升与 5 毫升
柱规格	6.7 mmID×3.0 cmL (1 毫升) 14.6 mmID×3.0 cmL (5 毫升)
粒径	平均 70 微米
基质结构	高交联纤维素
压力范围	0.4 MPa (4 巴)
建议流速	0.1 - 1.0 毫升/分钟(1 毫升) 0.1 - 5.0 毫升/分钟(5 毫升)
pH 稳性	3-12
存储 (长期)	20%乙醇, 2-8℃

操作指南

常规操作

- (1) 用吸附缓冲液平衡色谱柱
- (2) 上样 (最好用吸附缓冲液)
- (3) 用数个床体积的吸附缓冲液洗涤, 除去未结合物质。
- (4) 用解吸缓冲液洗脱结合物。

建议缓冲液

吸附缓冲液: 建议使用含 150mM NaCl 的低离子强度 (10mM 至 50mM) 缓冲液。可使用磷酸盐、醋酸盐或 Tris 等。根据不同的应用, 可以使用不同的缓冲离子。一般来说, 吸附强度与 pH 值和离子强度成反比。稍微增加离子强度有助于去除结合紧密的物质。

洗脱缓冲液: 建议洗脱缓冲液为 60mM 醋酸 pH 3.0。如果抗体是酸性不稳定的, 可以提高缓冲液 pH 到 3.5。也可以使用其他酸性缓冲液, 如 0.1M 甘氨酸, pH 3.0 或 0.1M 柠檬酸, pH 3.5。

样品制备

制备细胞培养样本, 将 pH 值调整到 7.5, 必要时加入 NaCl 使离子强度提高到 12 mS/cm。通过离心法或微滤法去除不溶性物质。如有必要, 可使用透析、渗滤或脱盐层析 (如 Cellufine GH-25) 交换样品缓冲液。

纯化流程

- (1) 用吸附缓冲液填充泵管或注射器出口。打开口塞 (层析柱的顶端), 将色谱柱与泵管或注射器连接, “滴入缓冲液”, 避免空气进入柱内。
- (2) 打出口塞 (层析柱的末端)
- (3) 洗净防腐剂, 并用 10 柱体积的吸附缓冲液平衡色谱柱。

- (4) 使用注射器或将样品泵入柱中。
- (5) 用 5-10 柱体积的吸附缓冲液清洗。
- (6) 用 5-10 柱体积的洗脱缓冲液洗提。

在 rProtein A 捕获后的建议精制步骤

在蛋白质 A 捕获后，需要在随后的“精制”步骤中去除以下杂物：a) 宿主细胞蛋白(HCP), b) 浸出的蛋白质 A 配体, c) 残留的双股脱氧核糖核酸 (dsDNA) 以及 d) > 300 kDa 分子量的单克隆抗体聚合物。某些情况下，还需要去除单克隆抗体二聚体。Cellufine 树脂可采用 1 毫升及 5 毫升微型柱形式预装，详见下文所列，以去除这些杂物。与此类树脂更多相关信息可登录以下网页查阅 <http://www.jnc-corp.co.jp/fine/en/cellufine/>

Cellufine™ MAX IB，一种新型的混合型伯胺基疏水改性树脂，可用于以流穿方式，去除 HCP、浸出的蛋白 A 和单克隆抗体聚合物。

- 可用 Tris 碱将 pH 调至 7.0
- 具有较宽的电导率范围，最高可达 0.2 M NaCl

Cellufine™ MAX GS，一种覆有右旋糖酐的阳离子交换树脂，具有高结合载量，可用于结合和洗脱，去除二聚体和聚集的单克隆抗体。

- 可用 Tris 碱将 pH 调至 4.5，低电导率 < 5mS /cm

Cellufine™ MAX Q-h，一种高容量阴离子交换树脂，可用于以流穿方式，去除 HCP、浸出的蛋白 A 和残留的双股脱氧核糖核酸 (dsDNA)。

- 可用 Tris 碱将 pH 调至 8.5，电导率 ~ 12mS /cm

再生与除热

Cellufine SPA-HC 通常在用初始洗脱液后用 0.1M 乙酸再生。如果有必要，可以采用 0.1M NaOH（静浸 30 分钟，然后向上流动，以替换柱头部的任何材料）进行在位清洗方法（CIP）。对色谱柱完成 10 柱体积的在位清洗后，用 5 柱体积的平衡缓冲液或 5 柱体积的 20%乙醇进行储存。

按比例增加

两个或三个 Cellufine™ SPA-HC 微型柱可以串联。

存储

用 5-10 柱体积 20% (v/v) 乙醇清洗色谱柱。用 20%乙醇将色谱柱于 2-8℃条件下贮存。
注意：为防止泄漏，必须确保末端塞紧。

更多信息查阅更多信息请登录: <http://www.jnc-corp.co.jp/fine/en/cellufine/index.html>

说明	数量	产品编号
Cellufine™ SPA-HC	5×1 毫升 微型柱	21900-51
	1×5 毫升 微型柱	21900-15

采购/技术支持**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/>