JNC CORPORATION

操作说明

微型柱 Cellufine Sulfate

1. 简介

微型柱 Cellufine Sulfate 是一种用于 Cellufine Sulfate 亲和层析的易用预装柱，Cellufine Sulfate 是一种亲和介质，用于病毒、病毒外壳、微生物抗原及特异性蛋白的浓缩、净化和除热原。Cellufine Sulfate 微型柱以 Cellufine Sulfate 凝胶填充。这种凝胶基于球状纤维素珠体，使用低浓度硫酸酯进行处理。低浓度 Sulfate 基团为凝胶提供了独特的色谱选择性，在某些情况下，这种色谱选择性类似于固定肝素。

由于 Cellufine Sulfate 的排阻限较低（3 kD），大分子主要通过填料外层吸收，缩短了吸收和解吸时间。其优异的硬度表现提高了流速，进而缩短了处理时间。由于热原对 Cellufine Sulfate 没有亲和性，通常可以用几个柱体积的已除热纯净水对凝胶除热原。

层析柱

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. 微型柱 Cellufine Sulfate 特征

柱体积	1 毫升与 5 毫升
柱规格（内径×长）	6.7 毫米×30 毫米(1 毫升) 14.6 毫米×30 毫米(5 毫升)
配基	Sulfate
饱和度	700 微克/干 凝胶
结合载量	3 毫克/毫升
粒径	约 40-130 微米
珠体基质	球形纤维素
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	20%乙醇，置于阴凉处

2. 操作指南

常规操作

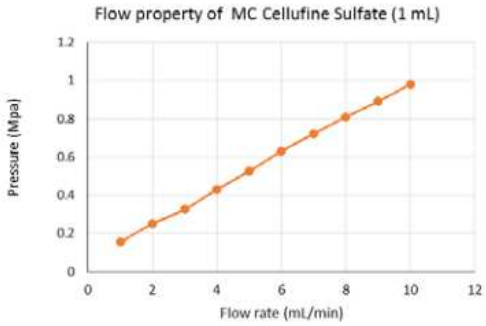
（1）用吸附缓冲液平衡色谱柱

（2）上样（样品应调整到吸附缓冲液的组成）

（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。

用 AKTA 系统（通用电气医疗集团）测定 Cellufine Sulfate 的流动性。



流动相：纯水（23℃），不使用节流器测量

建议缓冲液

吸附缓冲液

0.01 M 磷酸钠、0.1 M NaCl, pH7.5。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。还可以添加非离子洗涤剂(Tween®20、Triton®X 等)来提高溶解度。

洗脱缓冲液

通常，使用含有 1-2M NaCl 或者 KCl。用梯度洗脱法可确定准确的浓度。分阶梯度通常用于制备性应用。

样品制备

在吸附缓冲液中制备浓度为 1-20 毫克/毫升的样品。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。

3. 纯化流程

（1）用吸附缓冲液填充泵管或注射器出口。打开入口塞（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）打开出口塞（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。

4.再生与除热

Cellufine Sulfate 通常用高离子浓度（2.0-3.0M）NaCl 进行再生与除热。如果不够，在 2 - 10℃条件下，用 3 - 10 柱体积的 0.05-0.15 N NaOH 加强再生，然后用 2.0-3.0M NaCl 洗涤，直到 pH 下降到 9 以下。用吸附缓冲液洗涤色谱柱，直至平衡。

5. 按比例增加

两个或三个 Cellufine Sulfate 微型柱可以串联。

6.存储

用 5-10 柱体积 20%乙醇清洗色谱柱。用 20%乙醇将色谱柱贮存于阴凉处。
注意：为防止泄漏，必须确保末端塞紧。

7.参考

Preparation of endotoxin-free bacteriophages.
Cell Mol Biol Lett. 9(2) 253-9. (2004)
Boratynski J, Syper D, Weber-Dabrowska B, Lusiak-Szelachowska M, Pozniak G, Gorski A.

Development of Vero cell-derived inactivated Japanese encephalitis vaccine.
Biologicals. 30(4) 303-14. (2002)

Sugawara K, Nishiyama K, Ishikawa Y, Abe M, Sonoda K, Komatsu K, Horikawa Y, Takeda K, Honda T, Kuzuhara S, Kino Y, Mizokami H, Mizuno K, Oka T, Honda K.

Purification of a functional gene therapy vector derived from Moloney murine leukaemia virus using membrane filtration and ceramic hydroxyapatite chromatography.
Biotechnol Bioeng. 80 (4) 445-53. (2002)
Kuiper M, Sanches RM, Walford JA, Slater NK.

Scaleable chromatographic purification process for recombinant adeno-associated virus (rAAV).J Gene Med. 2(6)444-54.(2000)
O Riordan CR, Lachapelle AL, Vincent KA, Wadsworth SC.

8.更多信息

查阅更多信息请登录：https://www.jnc-corp.co.jp/fine/en/cellufine/

9.订购信息

产品	数量	产品编号
微型柱 Cellufine Sulfate, 1 毫升	5×1 毫升	19845-51
微型柱 Cellufine Sulfate, 5 毫升	1×5 毫升	19845-15
Cellufine Sulfate	10 毫升	676943324
Cellufine Sulfate	50 毫升	19845
Cellufine GH-25	100 毫升	670000327
微型柱 Cellufine GH-25	5×5 毫升	19711-55

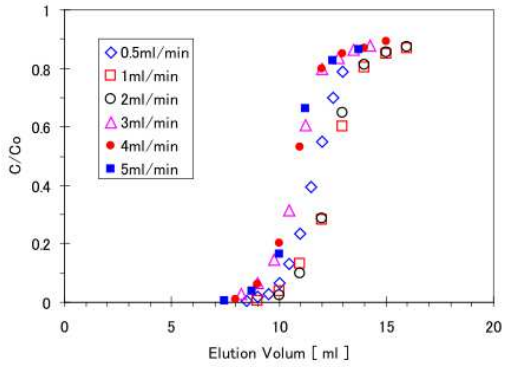


图 1. 不同流速下溶菌酶对 CapCell Sulfate1ml 的结合载量
色谱柱：Cellufine Sulfate, 1 毫升
样品：含溶菌酶 1 克/毫升的 0.01 M 钠磷酸盐，pH7
解吸：UV 280 nm

10.联系我们

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