

BioPro DA/BioPro CM 离子交换填料

使用说明书

① 前言

非常感谢您这次选用 BioPro 离子交换填料系列产品。BioPro DA/CM 离子交换填料是一款在球形亲水型聚合物基质上引入离子交换基团的非常适合于分离纯化蛋白质及多肽的产品。

本公司在 BioPro DA/CM 离子交换填料的制备过程中进行了严格的质量管理，保障了为客户提供最优质的产品。为了使提供给您的产品最大限度的发挥其性能，请认真阅读本产品的使用说明书。

② 产品规格一览

项 目	弱阴离子交换填料 BioPro DA	弱阳离子交换填料 BioPro CM
颗粒径 (μm)	60	
基质	亲水性多孔聚合物	
离子交换基团	-R-N(CH ₃) ₂	-R-COOH
使用 pH 范围	推荐: 3.0 ~12.0 短期: 1.0 ~ 13.0	推荐: 3.0 ~12.0 短期: 1.0 ~13.0
使用温度范围 (°C)	2~45	2~45
出厂溶剂	含 20 mM 磷酸钠的 20% 乙醇水溶液	
特点	适用于初期到中期阶段的分离纯化	

③ 装填方法

3-1 填料的前处理

推荐使用的配制匀浆用溶剂: 1M NaCl

- 1) 量取沉淀的填料量应为装填柱容积的 1.1~1.4 倍。使用烧杯或量筒等量取搅拌过的填料悬浊液，静置沉降后确认填料的量。然后此处添加 3~4 倍量的配制匀浆用溶剂。
- 2) 使用药勺轻轻搅拌，使填料悬浊。为避免填料的破损，请不要使用搅拌子。
- 3) 最少静置 3 小时，使填料充分沉淀。
- 4) 为除去微小颗粒，请将上清液倾斜倒出。
- 5) 重复步骤 4) 多次，至不再有微小颗粒漂浮。

3-2 匀浆的配制及色谱柱的装填

推荐使用的配制匀浆溶剂及装填溶剂: 1 M NaCl

- 1) 添加配制匀浆的溶剂做成匀浆浓度为 50~75% (按体积比计算) 的匀浆，然后进行色谱柱的装填。
- 2) 使用装填用溶剂进行梯度流速通液。初始时采用低流速通液，之后在 10 到 120 min 内将流速逐渐提高，最终速度可设为分离条件下流速的 2 倍左右。

* 具体装填方法请参考结合柱管的使用说明书。

④ 色谱柱性能确认（装填状态测试）

4-1 条件

洗脱液：水

样品：1% 丙酮

线流速：100 cm/hr

进样量：320 μ L (9 mm I.D.)

检测波长：UV 254nm

4-2 色谱柱性能

色谱柱装填好后，请确认色谱柱的理论塔板数 (N)、不对称因子 (As)。

理论塔板数 (半峰宽法)：目标数值 > 3000 N/m*

不对称因子 (10%峰高)：目标数值 0.8~1.5*

对于峰形出现拖尾的情况，请稍微提高一些装填流速；对于峰形出现前伸的情况，请稍微降低一些装填流速进行装填。

*以上数值仅为装填效果参考，有时即使装填效果在上述范围以外也可获得足够的分离性能。

⑤ 色谱柱平衡及洗脱

- 分离前的色谱柱平衡，请使用 5~10 倍柱容积量的初始洗脱液通液。
- 通常情况下使用 20~50 mmol/L 的缓冲盐作为初始流动相，使目标样品能吸附，然后采用盐浓度梯度洗脱（一般为，将氯化钠浓度从 0~0.5 mol/L 范围升高的梯度洗脱）或 pH 梯度洗脱实现目标物质的分离。为了将末端梯度洗脱液没有洗脱下来的残留杂质除去，推荐在每次分离后，使用含有 1 mol/L 左右氯化钠的缓冲盐通液洗脱。
- 可往洗脱液中添加的水溶性有机溶剂的最大比率可到 30% 左右。在加入有机溶剂前请确认是否会引起缓冲盐的析出。另外，还可以添加如可使蛋白质变性的尿素 (≤ 8 mol/L)、盐酸胍 (≤ 6 mol/L)、非离子型表面活性剂、阳离子型表面活性剂（仅限于 BioPro DA）、阴离子型表面活性剂（仅限于 BioPro CM）等。
- 请避免使用含氧化剂的溶剂做为洗脱液。
- 请避免往 BioPro DA 中添加阴离子型表面活性剂。
- 请避免往 BioPro CM 中添加阳离子型表面活性剂。

⑥ 清洗

由于样品中脂溶性物质和溶解性小的物质等对色谱柱会产生一定的吸附，因而会引起保留时间及峰形的改变、柱压的上升等现象。出现这种情况时，请按下述顺序进行清洗与再生。

整批处理法：使用填料量的 3~5 倍清洗液浸泡、搅拌。静置一段时间后，将上面的澄清液体倾斜倒掉。如此重复 2、3 次操作。

色谱柱清洗法：使用 3~5 倍柱容积的清洗液通液洗净（推荐断开色谱柱与检测器间的连接后，再进行清洗）。洗净后，请使用洗脱液再进行充分平衡。由于色谱柱的污染状态和清洗溶剂的种类（高粘度溶剂等）差异，有可能会存在色谱柱压力升高的现象，像这种情况推荐再次降低流速进行通液洗净。

关于清洗液，每次样品分离后的再生时推荐使用高浓度氯化钠水溶液（参考值：1~2 mol/L 左右的氯化钠水溶液）作为清洗液。如按上述操作，柱性能得不到恢复的情况，请使用 0.1~0.5 mol/L 氢氧化钠清洗后，再用 0.1~0.5 mol/L 氯化钠通液，最后置换为洗脱液。

⑦ 保存

请将本产品密封到出厂瓶中，保存条件为 4~35 $^{\circ}$ C 的 20%乙醇水溶液中。请避免产品的结冰。

由于 20%乙醇水溶液为可燃性液体，因此请远离火源保存。