



BESTCHROM

博 格 隆

Chromdex 30 PG
Chromdex 75 PG
Chromdex 200 PG
凝胶过滤介质
使用说明书



目 录

1、产品简介	1
2、技术参数	1
3、使用方法	1
4、在位清洗	5
5、灭菌	5
6、储存	5
7、销毁及回收	6
8、订货信息	6

1、产品简介

Chromdex 30 PG (prep grade)、Chromdex 75 PG 、Chromdex 200 PG 是以高交联度琼脂糖为基架，以交联葡聚糖为填充，平均粒径 34 μ m，兼具葡聚糖的高选择性和琼脂糖的物理性能，分辨率高、硬度大，柱床随缓冲液浓度变化小，化学性质稳定，非特异性吸附低，回收率高，易于放大，是精细纯化阶段的良好选择。

2、技术参数

产品名称		Chromdex 30 PG	Chromdex 75 PG	Chromdex 200 PG
外观		白色浆状物，放置可分层		
基架		高度交联的琼脂糖和葡聚糖		
分离范围	线性分子	0.4KD~7KD	0.5KD~30KD	1KD~100KD
	球状分子	0.3KD~10KD	3KD~70KD	10KD~600KD
颗粒大小 ⁺		24~44 μ m		
平均颗粒大小		34 μ m		
压力流速		30~50cm/h (0.1MPa BXK26/100 H=80cm 20°C)		
耐压		0.3MPa		
pH稳定性		1~14 (CIP)，3~12 (工作)		
化学稳定性		常见水相溶液：0.5M NaOH ⁺⁺ 、1.0M 醋酸、30%乙腈、30%异丙醇、8M尿素、6M 盐酸胍、50mM PB PH7.0、2%SDS、24%乙醇		
储存 ⁺⁺⁺		2~30°C，20%乙醇或2%苯甲醇		

+颗粒大小呈正态分布，在该范围内的颗粒占总数的 75%以上

++0.5M NaOH 仅用于清洗

+++2%苯甲醇仅用于国外运输或者客户指定

3、使用方法

3.1 层析柱装填

注：装柱前最好将介质悬液平衡到室温。

- 用量计算：根据计划装填的层析柱的柱体积计算需要的 Chromdex 介质的量。
需要的沉降介质体积=柱体积×1.15（即压缩比约为 1.15）

根据需要的沉降介质体积计算需要量取的介质悬液体积，计算公式为：

需要的介质悬液¹体积=沉降介质体积÷介质悬液¹浓度。介质悬液¹原始浓度见下表。

包装规格	介质悬液 ¹ 浓度(%)
100mL、500mL、1L、5L、10L	80
20L、40L	75

1: 指博格隆销售的原包装介质悬液。

注：对于非原始浓度的介质悬液，客户可根据介质悬液的实际浓度计算所需体积。

- 介质清洗：将介质悬液充分摇匀后量取上述方法计算所得的体积，倒入漏斗，抽去液体，用约 3mL 纯化水/mL 介质洗涤，重复洗涤 3 次，每次加洗液时需用玻璃棒或者搅胶棒搅拌，以便更好地清洗掉原保存液。
- 装柱胶悬液准备：将清洗好的介质从漏斗转移到烧杯或其它适当的容器中，加入装柱液至胶悬液浓度为 45~55%，搅匀备用。
- 取清洗干净的 BXK 层析柱（BXK 系列层析柱的直径从 1 厘米到 30 厘米不等，不同规格可以满足不同规模大小的层析应用），以层析柱 BXK16/70 为例，利用纯化水通过层析柱排液口排净下筛网内气泡，在柱子底部保留 1cm 高左右的液体，拧紧下堵头，调整柱子使其垂直于地面。
- 将搅匀后的胶悬液一次性缓慢倒入层析柱内（必要时使用装柱器），注意不要带入气泡。

装柱器：与 BXK 柱相同直径的空柱管。

- 用装柱液将装柱器加满，将装柱器与层析系统连接，开启流速，排空软管中气泡，关闭流速，再拧紧装柱器上盖。
- ✧ 倒入后用搅胶棒再次搅匀，然后用装柱液沿内壁从上而下冲洗柱子上的介质颗粒，让介质自然沉降，直至悬液上有大约 1cm 澄清液。安装上柱头，将上柱头与层析系统或者蠕动泵连接。调节适配器使其下降到与澄清液接触，待密封圈全部浸入澄清液后拧紧密封圈。确保层析柱顶部阀门打开情况下，慢慢下移适配器至所有气泡排净。

注：此操作仅用于 BXK 100 及以上层析柱。冲洗内壁可减少介质颗粒粘在密封

圈和柱壁之间，避免泄漏风险。

- 柱高为 60cm 时，可将装柱流速设定为 30cm/h，打开层析柱底阀/堵头，开启流速，使用设定流速压至胶面清晰稳定，标记胶面稳定时的位置。
- 去掉装柱器（如有），装上上柱头，将柱头下降至胶面上约 0.5cm 的位置，设定流速（Chromdex 30 PG 为 240cm/h、Chromdex 75 PG 为 270cm/h 、Chromdex 200 PG 为 360cm/h）继续压柱至胶面清晰稳定，标记胶面稳定时的柱高。
- 停泵，打开柱头上的阀门/堵头，关闭柱底的阀门/堵头，稍微放松柱头密封圈，下压柱头至标记位置下面约 0.3cm，旋紧柱头密封圈，关闭柱头阀门/堵头，装柱完成。

3.2 柱效测定和评价

- 通过柱效测定和评价可以确认层析柱装填质量。装柱完成后、层析柱使用期间以及分离纯化效果不理想时都需要进行柱效测定和评价。柱效通常用理论塔板高度（HETP）和非对称因子（As）来评价。
- 柱效测定可以采用丙酮或者 NaCl 作为样品进行测定，按照下表配制样品溶液和流动相。

	丙酮法测柱效	NaCl法测柱效
样品	1.0%（v/v）丙酮水溶液	0.8M NaCl（溶于水）
样品体积	1.0%柱体积	1.0%柱体积
流动相	纯化水	0.4M NaCl水溶液
流速	20 cm/h	20cm/h
检测器	UV 280 nm	电导率

- HETP和As计算方法

根据UV或者电导率曲线计算理论塔板高度（HETP）、理论塔板数（N）和非对称因子（As），公式如下：

$$HETP=L/N$$

$$N=5.54(V_R/W_h)^2$$

其中：

V_R =保留体积

W_h =半高峰宽

L =柱高

N =理论塔板数

V_R 和 W_h 的单位应一致；

$As=b/a$

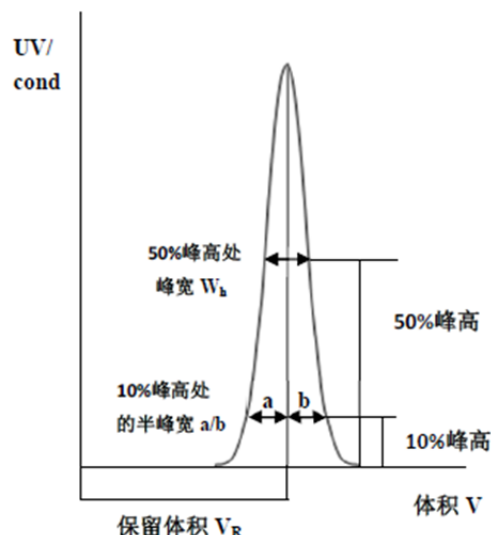
其中：

a = 在10%峰高处的第一个半峰宽

b = 在10%峰高处的第二个半峰宽

● 结果评价

一般来说，HETP 的数值若小于三倍介质平均颗粒大小且非对称因子在 0.7~1.3 之间，说明柱效良好。（对于 Chromdex 介质每米的塔板数应该大于 10000）。对于不理想的柱效需要分析原因并重新装柱。



3.3 层析过程推荐

- 样品准备：为防止样品堵塞柱子，在上样前样品需要用 $0.45\mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤，粘度太高时可以适当稀释，蛋白浓度一般不超过 70mg/mL 。
- 平衡：采用推荐的流速用平衡缓冲液冲洗层析柱，平衡缓冲液的选择取决于样品的稳定性，缓冲液的种类及 pH 对凝胶过滤的效果影响不大，但是琼脂糖中含有少量硫酸根和羧基，为了减少对碱性蛋白样品的非特异性吸附，建议在平衡缓冲液中加入至少 0.15M 的 NaCl。待出口的缓冲液的 pH 和电导与进入层析柱之前的缓冲液一致即表示层析柱平衡完成，一般需要 2~5 个柱体积。
- 上样：通过层析系统的上样环等装置将样品加载到层析柱上，上样的体积根据目的物和杂质的差别大小会有所不同，一般上样 0.5~5% 柱体积的样品量，根据分离效果可以适当调整上样体积，进行上样。
- 分离：继续用平衡缓冲液冲洗层析柱，收集流出的不同组分，至不再有生物分子流出，一般需要 1~1.5 个柱体积。
- 再生：用平衡缓冲液冲洗层析柱 2~3 个柱体积。
- 再平衡：用平衡缓冲液清洗，待 pH 和电导率与平衡缓冲液基本一致，就可以进行第二次上样，如此重复。

4、在位清洗

Chromdex 30 PG、Chromdex 75 PG 、Chromdex 200 PG 在某些工艺过程中，有变性蛋白、脂质、强疏水蛋白等在再生过程中不易洗脱，或者使用一段时间后有可能柱效下降、反压增加、分离效果变差、层析介质颜色变化等，可采用下面的流程进行在位清洗（一般建议每 5 次循环后清洗一次）。

- 先用含 1M NaCl 的 Buffer 冲洗 1 个柱体积

- 去除变性蛋白

- 采用 0.5M NaOH 在 20cm/h 流速下反向冲洗 2 个柱体积

注：变性的蛋白也可以用蛋白酶去除，采用 1mg/mL 的胃酶溶于含有 0.5M NaCl 的 0.1M 醋酸溶液中。

- 去除脂类或者脂蛋白

- 采用 70%乙醇或者 30%异丙醇在 20cm/h 流速下冲洗 4 个柱体积（为了防止气泡产生可以采用梯度的方式逐渐提高有机溶剂的比例）；

- 或者采用 1%的非离子型去污剂。

- 无机污染物

- 采用 0.5M 的醋酸冲洗 2 个柱体积。

- 用纯化水冲洗 4 个柱体积

5、灭菌

由于 20%乙醇或 2%苯甲醇保存液不具有杀菌、除热原作用，建议 Chromdex 30 PG、Chromdex 75 PG 、Chromdex 200 PG 介质在使用前及使用过程中，可以用 0.5~1M NaOH 按推荐流速洗涤装填好的层析柱以减少微生物污染风险。

6、储存

Chromdex 30 PG、Chromdex 75 PG 、Chromdex 200 PG 用 20%乙醇或 2%苯甲醇为保存液进行销售。使用后的 Chromdex 30 PG、Chromdex 75 PG 、Chromdex 200 PG 应储存于 20%乙醇中、2~30℃密闭保存，为了防止乙醇挥发以及微生物滋生，建议每 3 个月更换一次新鲜的保存液。

7、销毁及回收

Chromdex 30 PG、Chromdex 75 PG 、Chromdex 200 PG 在自然界很难降解，为了保护环境建议采用焚烧处理。

8、订货信息

产品名称	货号	包装
Chromdex 30 PG	AG317107	100mL
	AG317111	500mL
	AG0213	1L
	AG0214	5L
	AG0215	10L
	AG317115	20L
	AG317116	40L
Chromdex 75 PG	AG318107	100mL
	AG318111	500mL
	AG0073	1L
	AG0074	5L
	AG0075	10L
	AG318115	20L
	AG318116	40L
Chromdex 200 PG	AG319107	100mL
	AG319111	500mL
	AG0083	1L
	AG0084	5L
	AG0085	10L
	AG319115	20L
	AG319116	40L

预装柱名称	货号	包装
EzLoad 16/60 Chromdex 75 PG	EG004	1 根
EzLoad 16/90 Chromdex 75 PG	EG020	1 根
EzLoad 26/60 Chromdex 75 PG	EG005	1 根
EzLoad 26/90 Chromdex 75 PG	EG00713	1 根
EzLoad 16/60 Chromdex 200 PG	EG006	1 根
EzLoad 16/90 Chromdex 200 PG	EG021	1 根
EzLoad 26/60 Chromdex 200 PG	EG007	1 根
EzLoad 26/90 Chromdex 200 PG	EG00813	1 根