



BESTCHROM

博 格 隆

Bestdex G-25 系列葡聚糖凝胶 使用说明书



目 录

1、产品简介	1
2、技术参数	1
3、使用方法	2
4、分离效果的影响因素	5
5、在位清洗	5
6、灭菌	5
7、储存	5
8、销毁及回收	5
9、订货信息	6

1、产品简介

Bestdex G-25 系列介质是以葡聚糖为原料，采用环氧氯丙烷为交联剂而制成的凝胶过滤介质，具有亲水、多孔的特性，常用于蛋白质、多糖、核酸等生物样品的缓冲液置换、脱盐和去除小分子物质，也可以用于多肽、寡核苷酸的分离纯化，以及抗生素、化学合成药物、天然产物的分离纯化，还可用于化工中纳米材料的提纯以及环保领域的污水处理等领域。

Bestdex G-25 按照分子筛的工作原理，依据分子在层析柱中的保留时间不同来分离不同大小的分子。Bestdex G-25 根据颗粒大小分为以下四种类型：Bestdex G-25 C（粗），Bestdex G-25 M（中），Bestdex G-25 F（细），Bestdex G-25 SF（超细）。

2、技术参数

产品名称		Bestdex G-25 C	Bestdex G-25 M	Bestdex G-25 F	Bestdex G-25 SF
外观		白色至微黄色球形粉末			
基架		交联的葡聚糖			
颗粒大小（干） ⁺		100~300μm	50~150μm	20~80μm	20~50μm
颗粒大小（湿） ⁺⁺		160~500μm	80~240μm	30~130μm	30~80μm
平均颗粒大小（湿） ⁺⁺		320μm	140μm	90μm	50μm
最大流速（cm/h） ⁺⁺⁺		650	430	240	110
分离范围	线性分子	100D~5KD			
	球状分子	1KD~5KD(10~45 氨基酸)			
	核苷酸	<8bp			
得水值（mL /g干粉）		2.5			
每克干粉对应溶胀胶的体积		4~6mL（水） ~4.5mL（0.5M NaCl）			
pH稳定性		2~13			
化学稳定性		常用溶液：0.2M NaOH, 0.2M HCl, 1MHAc, 8M 尿素, 6M 盐酸胍, 1%SDS, 24%乙醇, 30%丙醇, 30%乙腈			

⁺颗粒大小呈正态分布，在该范围内的颗粒占总数的 80% 以上

⁺⁺不同溶液中颗粒大小会有差异，本数据为在 PBS 中颗粒大小

+++BXK26/70,柱高 60cm, 压力 0.3MPa 测得

3、使用方法

由于介质是以干粉的方式提供的，所以需要先溶胀，然后装填层析柱后使用。

3.1 溶胀

- 用量计算：根据计划装填的层析柱的柱体积计算需要的 Bestdex G-25 干粉的量。
干粉的量 (g) = (柱体积×1.15) ÷4.5。
- 将介质倒入 5 倍干粉重量的 80~100℃ 的 0.1M NaCl 中并稍作搅拌，溶胀 1h，或者常温溶胀 4h（注意在溶胀过程中不要使用磁力搅拌子搅拌，使用磁力搅拌子会导致介质颗粒破裂），常温溶胀后最好在负压下脱气。
- 溶胀完成后（高温溶胀需冷却至室温），去掉部分上层清液，使沉降胶的体积占总体积的 50~75%，搅匀备用。

3.2 装柱

- 装柱缓冲液对装柱的效果影响不大，可以使用层析用缓冲液也可以用水做为装柱液。
- 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），利用装柱液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。

注：此操作仅用于 BXK 50 及以下层析柱。

- ◇ 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。

- 设定装柱流速，由于 Bestdex 系列凝胶硬度比较大，流速和压力几乎成正比，在 5Bar 以内的压力下不会对介质造成破坏，应以尽可能大的流速完成装柱，以 BXK50，柱高 30cm 为例参考如下：

产品	Bestdex G-25 C	Bestdex G-25 M	Bestdex G-25 F	Bestdex G-25 SF
建议流速 cm/h	600	400	200	100

- 打开柱子下端封头，按照上面设定的流速启动蠕动泵或者层析系统。设定柱内压力小于层析柱最大耐压，若在装柱过程中超压，需要适当降低流速。
- 待胶悬液沉降完成需要再保持 30min 以上，标记胶面的位置，然后停泵。
- 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，按照上面的流速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。

3.3 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	30 cm/h	30cm/h
检测器	UV 280 nm	电导率



● HETP 和 A_s 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 (A_s), 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

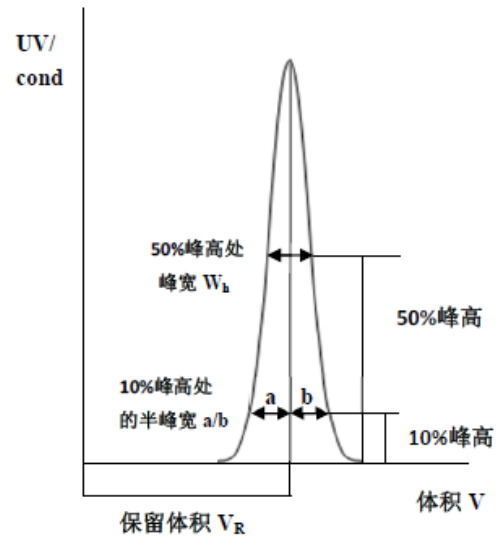
V_R 和 W_h 的单位应一致;

$$A_s=b/a$$

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 的数值若小于三倍溶胀后的介质平均颗粒大小且非对称因子在 0.8~1.8 之间, 说明柱效良好。对于不理想的柱效结果需要分析原因并重新装柱。

3.4 层析方法

- 缓冲液选择: 一般选用水相缓冲液, 缓冲液的 pH 和电导对于分离的效果影响不大, 主要考虑样品在缓冲液中的稳定性。
- 流速: 以推荐的流速运行, 柱高越大流速越慢。
- 样品准备: 为防止样品堵塞柱子, 在上样前样品需要用 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤, 若目的物和杂质差别比较小, 上样体积按照柱体积的 1~5%上样, 若目的物和要去除的杂质差别比较大 (如去除样品中的无机盐或缓冲液交换), 上样体积按照柱体积的 10~25%上样。

4、分离效果的影响因素

Bestdex G-25 系列凝胶过滤介质依据分子筛的原理分离大小有差异的物质，缓冲液的类型以及 pH 一般情况下不会对分离造成影响，在分离情况发生异常时可以从以下几个方面分析：

- 离子作用：葡聚糖链含有少量末端羧基，在极低的离子强度下会和被分离物质发生离子作用，在缓冲液中的盐浓度大于 50mM 时就可以消除这种作用。
- 疏水作用：交联剂中含有少量醚氧基，采用苯酚：乙酸：水=1:1:1 的溶液以及尿素或者硫氰酸钾都能抵消这种作用，当缓冲液中的盐浓度超过 0.5M 并且在低 pH 时会导致疏水作用增强，可以在缓冲液中加入有机溶剂如乙醇、乙腈等来消除这种作用。

5、在位清洗

Bestdex G-25 系列介质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(CIP)。

- 用纯化水冲洗 2 个柱体积
- 用 1M NaCl 冲洗 1 个柱体积
- 用 0.2M NaOH 冲洗 1 个柱体积
- 用纯化水冲洗 4 个柱体积

6、灭菌

溶胀后的 Bestdex G-25 可以使用 121℃ 高压灭菌 30min，也可用 0.5M NaOH 处理装填好的层析柱 30~60min 以减少微生物污染风险。

7、储存

干粉 Bestdex G-25 在阴凉干燥处密闭存放，防止吸潮；溶胀后的 Bestdex G-25 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。

8、销毁及回收

由于 Bestdex G-25 系列介质在自然界很难降解，为了保护环境建议采用焚烧处理。

9、订货信息

产品名称	货号	包装	产品名称	货号	包装
Bestdex G-25 C	AG0111	25g	Bestdex G-25 F	AG0131	25g
	AG0112	100g		AG0132	100g
	AG0113	500g		AG0133	500g
	AG0114	1kg		AG0134	1kg
	AG0115	5kg		AG0135	5kg
	AG0116	10kg		AG0136	10kg
	AG331115	25kg		AG333115	25kg
Bestdex G-25 M	AG0121	25g	Bestdex G-25 SF	AG0141	25g
	AG0122	100g		AG0142	100g
	AG0123	500g		AG0143	500g
	AG0124	1kg		AG0144	1kg
	AG0125	5kg		AG0145	5kg
	AG0126	10kg		AG0146	10kg
	AG332115	25kg		AG334115	25kg

产品名称（湿胶）	货号	包装
Bestdex G-25 C	AG1402	1L
Bestdex G-25 M	AG0502	1L
	AG0505	5L
	AG0506	10L
	AG0507	20L
Bestdex G-25 F	AG0602	1L
Bestdex G-25 SF	AG0702	1L

预装柱名称	货号	包装
BC10 G-25 F	EG002	30个
EzFast G-25 F	EG06021	1×1mL
	EG06031	5×1mL
	EG104201	1×5mL
	EG001	5×5mL
EzLoad 16/10 G-25 F	EG025	1 根
EzLoad 26/10 G-25 F	EG026	1 根
EzFast G-25 M	EG05021	1×1mL
	EG05031	5×1mL
	EG05023	1×5mL
	EG05033	5×5mL
EzLoad 50/20 G-25 M	EG022	1 根
EzLoad 50/10 G-25 M	EG05041	1 根
EzLoad 16/10 G-25 M	EG104204	1 根
EzLoad 26/10 G-25 M	EG008	1 根