



BESTCHROM

博 格 隆

CM Bestdex C-25
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、应用实例	4
5、在位清洗	4
6、灭菌	5
7、储存	5
8、销毁及回收	5
9、订货信息	5

1、产品简介

离子交换层析（ion exchange chromatography, IEX）是一类非常有效的生物分子分离纯化方法，该法主要依赖正负电荷间的相互作用，利用不同生物分子在特定条件下带有的电荷的性质和多少差异不同来进行分离，它具有载量高、分辨率好，条件可控、易于放大的特点，已广泛应用于医药、化工、冶金、食品等领域。

离子交换介质是由三部分组成：（1）交联的网状基架，该基架具有多孔、亲水、化学稳定性好的特点；（2）固定在基架上的功能基团，它是荷电基团，决定了离子交换层析介质的性质；（3）与功能基团带相反电荷的离子（可称为平衡离子），该离子可以可逆的与功能基团相结合。

CM Bestdex C-25是将羧甲基偶联在交联葡聚糖微球上形成的一种弱阳离子交换介质。它保留了天然多糖化合物极好的亲水性和孔结构，对生物活性分子具有很好的相容性，极低的非特异性吸附。CM Bestdex C-25是基于Bestdex G-25制备的，对小分子物质具有极高的载量，非常适合抗生素、天然产物等物质的分离纯化。由于该层析介质在不同缓冲液中柱床体积变化较大，所以不适合装成固定床层析柱。

2、技术参数

外观	白色至微黄色粉末状固体
基架	交联葡聚糖
功能基团	羧甲基
干粉大小	40~120 μ m
溶胀系数	7mL/g干粉（PBS）
离子载量	4.0~5.0 mmol H ⁺ /g干粉
耐压	0.3 MPa
工作pH范围	6~10
pH稳定性	2~13（CIP）,2~12（工作）
化学稳定性	常见水相溶液：8M尿素、6M 盐酸胍、30%异丙醇、70%乙醇
温度耐受性	使用温度2~40 $^{\circ}$ C，不能冻结，可121 $^{\circ}$ C高压灭菌（灭菌时加50mM PB pH 7）
推荐流速范围	60~150cm/h



3、使用方法

3.1 介质溶胀

- 将介质倒入约 10 倍干粉重量的 80~100℃的 0.1M NaCl 中并稍作搅拌，溶胀 2~4h，或者常温溶胀 24h（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）（1g CM Bestdex C-25 干粉溶胀后体积约为 7mL）。
- 置换溶液，将胶悬液倒入布氏漏斗，抽去液体，并用约 3 倍体积的蒸馏水洗涤，（当体积比较大或者条件不具备的时候也可以采用待胶分层后抽去上层溶液，再加入适量蒸馏水搅匀等到分层后抽去，反复 3 次的方法置换介质溶液）
- 如需高压灭菌，请将介质溶液置换成 0.1M NaCl 溶液。
- 高压后的介质用 3 倍介质体积的无菌水清洗。

3.2 介质使用

3.2.1 批量吸附

若使用该介质进行批量吸附则不需要装填层析柱，根据载量和目的物的量计算需要的介质的量，将步骤 3.1 中准备好的介质投入到含有目的物的溶液中，搅拌 30min 以上，吸附完成后采用沉淀去上清或者滤网截留的方式收集介质，用平衡缓冲液清洗后，用洗脱缓冲液洗脱。

3.2.2 层析柱装填和使用：

注：装柱前最好将介质悬液平衡到室温。

- 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 50~75%，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），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。

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。

- 设定好流速（流速至少是使用流速的 1.5 倍，不要超过最大流速。），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，如果在装柱过程中压力超过 0.3MPa，需要适当降低流速。
- 待胶面稳定后需要再保持 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 层析方法

- 缓冲液：选用低盐（小于 5mS/cm）低 pH 缓冲液有利于样品及杂质的结合，通过选择适合的 pH 及盐浓度来达到样品同介质结合或流穿的目的，比较常见的方法是让目的物质同介质结合，杂质流穿，但如果工艺需要，也可将杂质同介质结合，目的物质流穿。缓冲液以有利于目的物的结合，同时需要考虑目的物在缓冲液中的稳定性。
- 流速：根据柱子的高度一般选用 60~150cm/h 的流速，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，并将样品的 pH 和电导率调整到与平衡缓冲液一致。
- 流穿模式：收集流穿峰。
- 平衡：用平衡缓冲液清洗层析柱至出口处的缓冲液的 pH 和电导率与平衡缓冲液



基本一致，通常需要 3~5 个柱床体积。

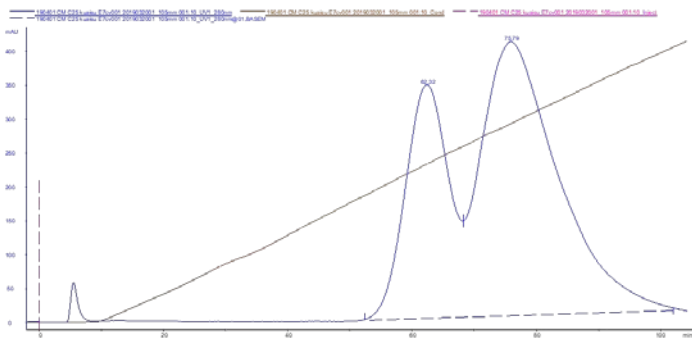
- 上样：根据样品中的物质含量和 CM Bestdex C-25 的结合载量确定上样体积，进行上样。
- 清洗：用平衡缓冲液清洗层析柱至紫外吸收接近基线。
- 洗脱：
 - 盐浓度洗脱：可先通过阶段梯度洗脱的方式洗脱。
 - pH 洗脱：通过改变洗脱液 pH 使目的蛋白带电状况发生变化，阳离子填料通过提高洗脱液的 pH 来进行洗脱。

注意：需要留意该介质在使用过程中柱床体积随着缓冲液的变化情况，如果膨胀至柱头导致压力过大需要适当上提柱头防止损害层析柱。

- 再生：根据样品的性质，填料再生通常用高离子强度缓冲液(例如 1~2M NaCl)和/或降低/增加 pH，然后在结合缓冲液中重新平衡。在某些工艺中，像变性蛋白质或脂质等在再生过程中不易洗脱，这些可以通过在位清洗去除。
- 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、应用实例

用 CM Bestdex C-25 分离溶菌酶和硫酸奎宁



平衡液：40mM PB PH6.0
洗脱液：40mM PB+0.6M NaCl PH6.0
柱子：B XK 16/20
样品：溶菌酶和硫酸奎宁混合液

5、在位清洗

随着层析介质使用次数的增加，污染物在层析柱上的积累也在不断增加，定期的在位清洗能有效防止污染物的累积，保持层析介质稳定的工作状态。客户可根据使用过程中介质的污染程度确定在位清洗的频率（如果污染较严重，建议每次使用之后都进行在位清洗，以保证结果的可重复性）。

对于不同类型的杂质和污染物建议清洗条件如下：

- 结合比较紧密蛋白的去除：用 2~3 个柱体积的 2M NaCl 清洗。
- 强疏水性蛋白、沉淀蛋白的去除：先用 2~3 个柱体积的 1M NaOH 清洗，然后立即用 5~10 个柱体积的纯化水清洗。
- 脂蛋白和脂类物质的去除：先用 5~10 个柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗，然后用 5~10 个柱体积的纯化水清洗。
- 也可将上述两种清洗条件结合进行清洗，如用 0.1M NaOH 的 30%异丙醇溶液反向清洗。

注：因 CM Bestdex C-25 在有机试剂中体积变换较大，建议拆柱后在容器中清洗并重新装柱；

70%乙醇或 30%异丙醇使用前应进行脱气处理；在位清洗过程中流速可选择 30-60cm/h；堵塞严重的时候也可以采用反向清洗。

6、灭菌

CM Bestdex C-25 可以用 121℃ 高压灭菌 30min（灭菌时加 50mM PB pH 7）。

7、储存

CM Bestdex C-25 以干粉形式供货。使用后的 CM Bestdex C-25 应储存于 20%乙醇中、2~30 密封保存，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 CM Bestdex C-25 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
CM Bestdex C-25	AI0261	25g
	AI0262	100g
	AI0263	500g
	AI0264	1kg
	AI0265	5kg
	AI0267	10kg
	AI0268	20kg
	AI0266	25kg