



BESTCHROM

博 格 隆

MegaPoly BXS 强阳离子交换介质

使用说明书



目 录

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

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数量差异来进行分离，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。

MegaPoly BXS 是一种强阳离子交换介质，是交联聚苯乙烯一二乙烯基苯基架，表面键合磺丙基功能基团，通过化学偶联方式制备，平均颗粒大小约 50 μm 。经过特殊设计的孔径结构，具有较大的贯穿孔和扩散孔，一方面，流速可以大大提高，而不影响生物分子结合载量和分辨率；另一方面，可以保证生物分子和功能基团快速相互作用，赋予了产品高流速、高载量，高分辨率的特点。因此，被广泛应用于重组蛋白、单克隆抗体、DNA、病毒和多肽等大尺寸生物分子的快速、高效分离纯化，在生物医药领域应用前景广阔。

该介质具有以下特点：

- 交联聚苯乙烯一二乙烯基苯颗粒机械强度高、反压低
- 特殊孔径分布结构，增强生物分子和层析介质相互作用
- 高载量、高分辨率、高流速
- 物理及化学性质稳定
- 提供更快速，更高效的分离纯化方法选择

2、技术参数

外观	白色浆状物，放置可分层
基架	交联聚苯乙烯-二乙烯基苯颗粒
功能基团	磺丙基
颗粒大小	~50 μ m
动态载量+	人 IgG 载量>100mg/mL
耐压	10MPa
盐耐受性	0-5M，所有常用盐
化学稳定性	所有常用试剂：水，1M NaOH、8M 尿素、6M 盐酸胍、乙二醇、0-100% 酒精，乙腈，2 M 乙酸，1 M 盐酸，其他常见有机溶剂
pH 稳定性	1~14
温度耐受性	使用温度 2~30 $^{\circ}$ C，不能冻结
储存	2~30 $^{\circ}$ C，20%乙醇或 0.1M NaOH
注意事项	避免与强氧化剂、氧化性酸、强还原剂、丙酮或苯甲醇接触

+10%动态载量，Buffer A: 50mM 乙酸钠，pH5.5，10cm 柱高，流速：100cm/h

3、使用方法

3.1 层析柱装填

MegaPoly BXS 具有机械刚性和不可压缩性，可以有效地填装在低压玻璃柱和高压不锈钢柱中。装柱方法可以采用传统的流速法、自动轴向压缩法或者自然沉降法。

- 用量计算：根据计划装填的层析柱的柱体积计算需要的MegaPoly BXS量，计算公式为：需要的介质悬液¹体积=柱体积 \times 1.06 \div 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(%)
25mL、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，倒入砂芯漏斗，抽滤，用约 3mL 装柱溶液（20%乙醇或 0.1M NaCl）/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 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），以 BXK16/20 为例，利用装柱液通过层析柱排水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。
- 将搅匀后的介质悬液一次性缓慢倒入层析柱内（必要时使用装柱器，将其与层析柱连接），注意避免产生气泡。

装柱器：与 BXK 柱相同直径的空柱管。

- ◇ 倒入后用搅胶棒再次搅匀，然后用装柱液沿柱子内壁从上而下冲洗柱壁上的介质颗粒，让介质自然沉降，直至悬液上有大约 1cm 澄清液。将适配器与层析系统连接，开启流速，排空上柱头软管中的气泡，将其与装柱器上部连接。调节柱头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，操作过程中应避免产生气泡。

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 10cm 时，可将装柱压力设定为 2.5bar，打开层析柱下堵头，开启流速，使用设定流速压至胶面清晰稳定，标记胶面。
- 若使用装柱器，则待胶面稳定后去掉装柱器，装上上柱头，将柱头调节至离胶面上方约 0.5cm 的位置，设定流速为 480cm/h 继续压至胶面清晰稳定，标记胶面。
- 停泵，堵上下堵头，打开适配器与机器的连接处，将上柱头下压至标记位置下约 0.3cm，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NaCl作为样品进行测定，按照下表配制样品溶液和流动相。

NaCl法测柱效	
样品	0.8M NaCl水溶液
样品体积	1.0%柱体积
流动相	0.4M NaCl水溶液
流速	30cm/h
检测器	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；

$$As=b/a$$

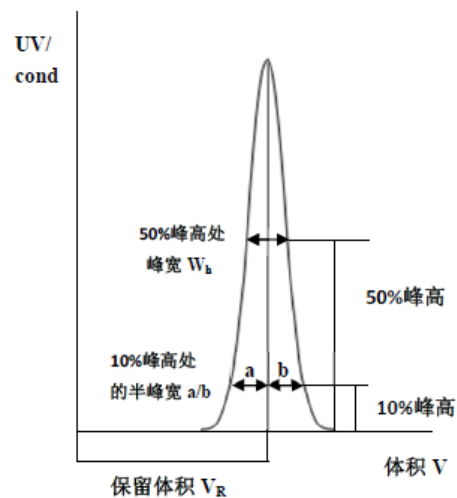
其中：

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 0.8~1.8 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。





3.3 层析方法

- 缓冲液选择：应选择基团不与介质作用的缓冲盐，平衡缓冲液宜采用低盐（小于 5mS/cm）和低 pH（通常低于目标物等电点 1-3 个 pH 单位）缓冲液以有利于目标物的结合，同时需要考虑目标物在缓冲液中的稳定性。洗脱缓冲液通常为在平衡缓冲液中加入高浓度盐（如 1M NaCl）的缓冲液或高 pH 洗脱。
- 流速：根据柱子的高度一般选用 200cm/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，样品使用前需用 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤，并将样品的 pH 和电导率调节到与平衡缓冲液一致（可以采用稀释、超滤以及置换缓冲液的方式调整样品的 pH 和电导率）。
- 平衡：用平衡缓冲液平衡层析柱至 pH 和电导率与平衡缓冲液基本一致，通常需要 4 个柱体积。
- 上样：根据样品含量和 MegaPoly BXS 的结合载量确定上样体积。
- 清洗：用平衡缓冲液清洗层析柱至紫外平衡。
- 洗脱：可以采用线性梯度或者步级梯度增加洗脱液中的洗脱强度，将不同结合强度的物质从层析柱中洗脱下来，收集不同的组分，检测目标物所在的位置。由于介质的耐盐性增加，可能需要调整盐或 pH 值以洗脱，并与其他介质相比保持相同的洗脱体积和保留时间。
- 再生：用含有高浓度盐（如 2M NaCl）的平衡缓冲液再生层析柱。
- 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

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：

- 用 3~5 个柱体积的 1~2M NaCl 和 3~5 个柱体积的 0.5~1 M NaOH 清洗介质。
- 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，如用含有 1M NaOH 的 30% 异丙醇溶液清洗。

注：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；堵塞严重的时候可以采用反向清洗。

5、灭菌

由于 20% 乙醇或 0.1M NaOH 保存液不具有杀菌、除热原作用，建议 MegaPoly BXS 介质在使用前及使用过程中，可以采用 1M NaOH 处理 0.5~1h 以减少微生物污染风险，也可以用 121℃ 高压灭菌 30min（灭菌时加 50mMPB，pH 7）。

6、储存

MegaPoly BXS 用 20% 乙醇或 0.1M NaOH 为保存液进行销售。使用后的 MegaPoly BXS 应储存于 20% 乙醇或 0.1M NaOH 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

由于 MegaPoly BXS 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
MegaPoly BXS	AI05701	25mL
	AI05702	100mL
	AI05703	500mL
	AI05704	1L
	AI05705	5L
	AI05706	10L
	AI05707	20L
	AI05708	40L



预装柱名称	货号	包装
EzFast MegaPoly BXS	EI05721	1×1mL
	EI05731	5×1mL
	EI05723	1×5mL
	EI05733	5×5mL
EzScreen MegaPoly BXS	EI05725	1×4.6mL
	EI05735	5×4.6mL
EzSelect MegaPoly BXS	EI05726	8×600μL
EzLoad 16/10 MegaPoly BXS	EI05701	1 根
EzLoad 26/10 MegaPoly BXS	EI05711	1 根