

# PolyGel™ 15S

## 高分辨率强阳离子交换层析介质

### 使用指南

## 1 产品简介

PolyGel™15S 是一种强阳离子交换层析介质，具有极高分辨率，设计用于实验室研发及工业应用中的精纯步骤。产品采用 15 $\mu$ m 单分散 PS-DVB (聚苯乙烯-二乙烯基苯共聚物)为基质，经过基质表面亲水改性后，再键合离子交换基团 (S) 修饰制备而成，机械强度高，非特异性吸附低，流速高，化学耐受性好，使用寿命长。

#### 产品特点：

- 高结合载量和极好的生物相容性；
- 独有的制球及制孔技术，使分子量的影响极低，分辨率高；
- 高柱效、高耐压、低反压及高流速；
- 独特的亲水性和表面键合技术，使其非特异性吸附低；
- 批间差异小，质量稳定，易于工业放大生产。

应用领域：胰岛素、多肽等的精度纯化。

## 2 技术参数

产品名称	PolyGel™ 15S
离子交换类型	强阳离子交换
基质	单分散 PS-DVB
配基	-SO <sub>3</sub> H
粒径	15 $\mu$ m
孔径	500 Å
配基密度	0.22 meq/mL
每毫升载量	>70 mg Lys
推荐流速	100~300cm/h (根据柱子规格选择合适流速)
CIP 在位清洗	0.5M NaOH
最大耐压	6 MPa
pH 稳定性	2~12 (工作) 1~14 (CIP)
化学稳定性	常见水相溶液, 1MNaOH、6M 盐酸胍、30%异丙醇、70%乙醇
使用温度	4~30°C
存储	2~30°C 20%乙醇

## 3 操作说明

### 3.1 填料装柱

PolyGel™ 15S 离子交换层析介质可以在实验室被填充到 HiQumn® 中压层析柱中，以扩大产量。将填料填充到层析柱中，根据样品中蛋白含量和填料载量选择合适的层析柱和柱高。

#### 3.1.1 填料准备

在装柱前，填料要平衡到室温，建议采用静置沉淀法，确定胶悬液浓度，保存在 20% 的乙醇中，1.5Kg 匀浆液对应 1L 介质体积。推荐压缩比在 1.05。

通过真空抽滤，将填料中 20% 乙醇溶液更换为装柱所需的溶液（例如水或 0.5M NaCl），重复以上步骤 3 次，最后用装柱缓冲液重新悬浮填料，建议胶悬液浓度为 50%-70%。

所需悬浊液体积 (mL) = 装柱体积 (mL) \* 填料压缩因子 / 胶悬浊液浓度

#### 3.1.2 层析柱准备

HiQumn 中压层析柱和装柱器在使用前，应用装柱液润洗，检查层析柱完好无损伤，确保所选筛网（筛板）的孔径和所选填料的粒径相匹配，确保底端部件和顶部适配器的管件连接牢固。

#### 3.1.3 层析柱装柱

- 1) 取清洗干净的 HiQumn® 中压层析柱，借助蛋白纯化仪或注射器，用装柱液通过下端接头排空管线及筛板中的空气，也可用重力法排空筛板及管线中的空气，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。
- 2) 再次混匀胶悬液，确保悬液均一，借助玻璃棒将胶悬液缓慢且一次性贴壁倒入柱管中，用装柱液冲洗柱管并加满。注意不要带入气泡。

注：当装柱体积大于柱体积的 50% 以上时建议借助配套装柱器装柱。

- 3) 使其自然沉降，胶面上有 1~2cm 澄清液时，将适配器管线连接设备，低流速运行，排出适配器管线中的气泡，打开底部管线堵头，将适配器以 45° 角放入玻璃管中，顺时针拧紧上端固定帽，调节适配器使其 O 型圈浸入澄清液中，之后顺时针拧紧上端调节帽。请确保整个操作在一条直线上完成，注意不要引入气泡。
- 4) 可以采用高流速或者恒压法压至胶面清晰稳定。读取刻度并记录，关闭流速。
- 5) 如用装柱器装柱，拆除装柱器，用快速锁将调节杆缓慢下移至胶面位置，将上端调节帽顺时针拧紧，继续运行上述流速，如果胶面发生改变，可以重新调节适配器高度。
- 6) 稍微拧松上端调节帽，按压缩比确定最终柱床高度，拧紧上端调节帽，采用先下后上的方式拧紧上下端堵头，装柱完毕。

### 3.2 柱效测定

- 1) 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。
- 2) 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	30 cm/h
检测器	UV 280 nm	电导率

### 3) 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

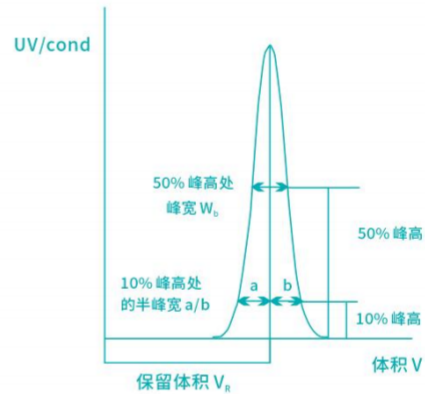
$L$ =柱高  $N$ =理论塔板数  $V_R$  和  $W_h$  的单位应一致；

$$As=b/a$$

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



### 4) 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

### 3.3.1 缓冲液准备

具体的缓冲体系应根据目标蛋白的稳定性和等电点、离子交换介质的种类进行筛选和优化。

PolyGel™ 15S 建议使用缓冲液：

平衡缓冲液：20 mM PBS, pH7.0

洗脱缓冲液：20 mM PBS+1M NaCl, pH7.0

### 3.3.2 样品准备

为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或微滤（0.45μm）处理。

### 3.3.3 样品纯化

- 1) 平衡：用 0.5~1 CV 洗脱缓冲液进行预平衡，再用 5~10CV 的平衡缓冲液平衡层析柱，至流出液电导和 pH 不变（与平衡液一致）；
- 2) 进样：样品缓冲液应尽可能与平衡液一致。
- 3) 淋洗：继续用平衡缓冲液淋洗至基线；
- 4) 洗脱：可以根据实际情况采取提高盐浓度或改变流动相 pH 的方法依次洗脱吸附于层析介质上的样品。
- 5) 再生：每次层析之后可用 0.5M~2M NaCl 清洗层析柱，除去强结合的蛋白；
- 6) CIP：0.5M NaOH 清洗 3~4CV，碱洗后用高盐迅速将 pH 冲洗至中性，然后用纯水冲洗掉再保存柱子。

## 4 在位清洗及储存

### 4.1 在位清洗

介质使用数次（具体次数与原料的种类和来源及实验要求有关）后，需要对介质进行在位清洗：

- 1) 对于通过离子键强结合的蛋白，可用 3CV 2M NaCl 清洗，并用 3 CV 以上的去离子水清洗；
- 2) 对沉淀蛋白、疏水性结合的蛋白、脂蛋白，用 0.2~0.5 M NaOH 清洗，并用 5 CV 以上平衡液和 3 CV 以上的去离子水清洗；
- 3) 对强疏水性结合的蛋白、脂蛋白和脂类物质，可用 5CV 以上的 50%乙醇或 30%异丙醇清洗，6M 盐酸胍或者 8M 尿素清洗，并用 5CV 以上的去离子水清洗。也可用含非离子表面活性剂的碱性或酸性溶液清洗，如用 0.1%~0.5%的 Triton X-100 + 0.1 M 乙酸清洗 1~2 小时，并用 5CV 以上的 50%乙醇冲洗去除去污剂，然后用 5CV 以上的纯水冲洗（使用高浓度的有机溶剂时，为了避免产生气泡，应采用逐步增加有机溶剂浓度的方法）。

### 4.2 储存

2~30°C 下 20% 乙醇中保存（4°C 下有利于长期保存）；层析柱中的介质可用 20% 的乙醇冲洗后保存于 2~30°C。

*注：防止乙醇挥发以及微生物生长，建议 3 个月更换一次 20%乙醇溶液；在装柱、使用和保存柱子的时候，要避免柱子流干或密封不严，防止气泡进入。*

## 5 订货信息

### 预装柱

货号	产品名称	规格
30-1190-01	Xtrap PolyGel™ 15S	1mL
30-1190-05		5mL
30-1190-01		8x100mm

### 层析介质

货号	产品名称	规格
20-1190-02	PolyGel™ 15S	30mL
20-1190-03		100mL
20-1190-04		500mL
20-1190-05		1L
20-1190-07		10L

1. PolyGel™ 15S 层析介质可提供试用装
2. 如需更大规格或型号定制可联系我公司销售人员



非常感谢您订购科诺赛生物的产品！  
如需了解最新产品信息，请拨打服务热线 0532-55679191  
或者发邮件至 [marketing@chromsep.cn](mailto:marketing@chromsep.cn)  
或者登陆我们官方网站 [www.chromsep.cn](http://www.chromsep.cn)