

Crysto Shell 400

Crysto Shell 700

复合模式层析介质

使用指南

1 产品简介

- ◎ Crysto Shell 系列产品由激活的配基核心和惰性壳层组成；
- ◎ 壳层孔径小于核心孔径，壳层厚度约 5 μm，可以阻止分子量 >400/700kDa 的分子进入核心层；
- ◎ 核心部分被辛胺基团激活，实现了阴离子交换+疏水作用的双重功能；
- ◎ 可快速捕获及清除小于400/700kDa的杂质分子，能有效去除拟纯化体系中的宿主细胞蛋白、DNA片段、内毒素、白蛋白等杂质。

应用领域：病毒、外泌体、疫苗、IgM抗体等生物大分子的分离纯化。

2 产品参数

产品名称	Crysto Shell 400	Crysto Shell 700
基质	高度交联琼脂糖	高度交联琼脂糖
平均粒径	90μm	85μm
微球表面基团	微球壳层为羟基，核心部分为辛胺基	微球壳层为羟基，核心部分为辛胺基
每毫升载量	20mg 卵清蛋白	20mg 卵清蛋白
最高流速	300cm/h (根据柱子规格选择合适流速)	400cm/h (根据柱子规格选择合适流速)
最高耐压	0.3 MPa	0.3 MPa
pH稳定性	2~14	2~14
储存	20%乙醇 2~30°C	20%乙醇 2~30°C

3 使用指南

3.1 填料装柱

Crysto Shell 系列复合模式交换层析介质可以在实验室被填装到HiQumn[®] 中压层析柱中，以扩大产量。将填料填装到层析柱中，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，我们原包装的填料以50%的浓度储存在20%的乙醇中。压缩比在1.10~1.12。

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），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

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：

$$\text{HETP} = L/N$$

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

其中：

VR=保留体积，Wh=半高峰宽，

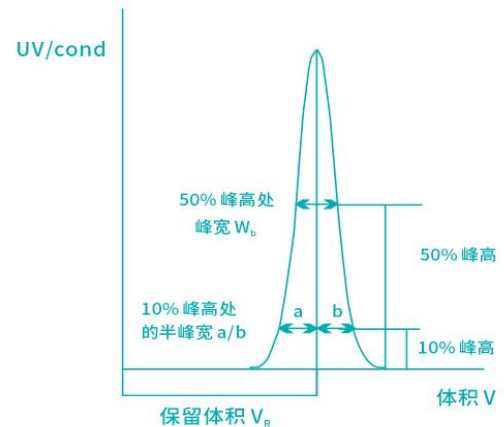
L=柱高，N=理论塔板数，VR和Wh的单位应一致；

$$As = b/a$$

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 的数值若小于五倍介质平均颗粒大小且非对称因子在0.8~1.5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

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。所使用的平衡液，根据不同目标蛋白填料自行选择。例如：

平衡缓冲液：20 mM Tris-HCl+0.15 M NaCl pH 8.0

3.3.2 样品准备

样品在上样前，建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3.3.3 样品纯化

- 1) 平衡：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：纯化过程中，病毒等大分子不能通过外壳进入微球内部，因此直接流穿，大部分杂质可以进入微球内部通过离子和疏水作用结合在介质上。为了确定在保持目标纯度的前提下的最大上样体积，建议在工艺开发过程中对不同上样量时的流穿进行分析检测，进而确定上样量，以提高目的物的回收率、纯度以及纯化效率。
- 3) 后平衡：继续用平衡缓冲液平衡收集流穿目的物；
- 4) 再生：2 M NaCl、0.5 M NaOH（或+30%异丙醇）CIP清洗5个柱体积；
- 5) 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 保存

4.1 储存

2-30°C下20%乙醇中保存（4°C下有利于长期保存）

5 订货信息

预装柱

货号	名称	规格
31-1640-01	Xtrap Crysto Shell 400	1mL
31-1640-05		5mL
31-1640-10		8x100mm
31-1650-01	Xtrap Crysto Shell 700	1mL
31-1650-05		5mL
31-1650-10		8x100mm

层析介质

货号	名称	规格
18-1640-02	Crysto Shell 400	30mL
18-1640-03		100mL
18-1640-04		500mL
18-1640-05		1L
18-1640-07		10L
18-1650-02	Crysto Shell 700	30mL
18-1650-03		100mL
18-1650-04		500mL
18-1650-05		1L
18-1650-07		10L



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

或者登陆我们官方网站 www.chromsep.cn