

Monomix HC60-Boronate 亲和填料产品说明书

一、 产品简介

Monomix HC60-Boronate 亲和填料以 60 μm 粒径的单分散聚甲基丙烯酸酯为基质，粒径均一，具有良好的物理和化学稳定性。Monomix HC60-Boronate 亲和填料表面经赛分科技特殊亲水涂层处理，具有更好的亲水性，最大程度地避免与生物类样品的非特异性吸附。并通过专有的表面修饰技术，将苯硼酸官能团键合到亲水基质表面，得到专为富集含有顺式二元醇结构分子的亲和填料。

大多数糖蛋白、核苷酸或糖类等生物样品分子中均含有顺式二元醇结构，Monomix HC60-Boronate 亲和填料表面的苯硼酸官能团在碱性条件下可以与该结构形成共价的硼酸酯结构，可用于在复杂样品中捕获、富集或去除目标分子的作用。

层析介质特点

- 📖 高结合载量和极好的生物相容性
- 📖 刚性基质可耐受高压和高流速
- 📖 高分辨率、高柱效和高回收率
- 📖 高批间重现性、易于放大
- 📖 产品供应能力：> 100 L

二、 安全

有关本产品安全使用的信息，请参阅安全数据书(SDS)。

三、 产品性质及特征参数

3.1 层析介质化学结构与技术参数

Monomix HC60-Boronate 为具有特异性的亲和层析介质，配基为硼酸基团。结构示意图如图 1 所示，具体产品技术参数见表 1。

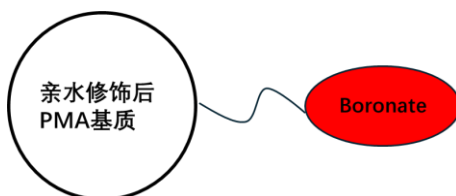


图 1.层析介质配基结构示意图

表 1. Monomix HC60-Boronate 层析介质技术参数

产品名称	Monomix HC60-Boronate
官能团	Boronate (苯硼酸)
粒径	~60 μm
动态载量* (/mL 填料)	10 - 30 μmol Sorbitol
流速/压力关系*	600 cm/hr

pH 稳定性 (操作)	2 - 13
pH 稳定性 (CIP)	1 - 14
工作温度	4-35°C
耐受压力	≤ 1.0 MPa (10 bar)
化学稳定性*	兼容于水和乙腈、丙酮或甲醇的混合液。 常用缓冲液体系: HEPES, MES、磷酸盐、醋酸盐缓冲液等
运输条件	4-35°C, 保存于 20% 乙醇
保存条件	具体见“八、产品储存”内容
典型应用方向	糖蛋白、核苷酸、多糖等

*注: 1.DBC 测试方法: 线性流速为 360 cm/h, 上样液为含 1.0 mg/mL 溶菌酶的 25 mM 磷酸盐缓冲液(pH=7.0)+ 2 M (NH₄)₂SO₄;
2.流速/压力关系测试方法: 柱高为 200 mm, 柱压为 2.0 bar 条件下。

四、层析柱装柱

4.1 实验室用装柱方法 (内径 ID 6.6 mm -25 mm 实验室用层析柱) 准备工作

4.1.1.1 装柱设备及层析柱: 检查蛋白纯化仪 (例如 AKTA Pure 150) 是否正常, 特别是压力检测模块和电导检测模块;

4.1.1.2 缓冲液配制: 配制足量的装柱、测试缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液、1.0 M NaCl 水溶液。

4.1.2 置换保存溶剂

Monomix HC60-Boronate 填料出厂时保存在 20% 乙醇中, 体积比为 50%, 装柱前需将 20% 乙醇置换为 0.1 M NaCl。快速置换方法: 将填料混合后取所需匀浆液倒入柱管中, 安装好柱头并用 0.1 M NaCl 冲 5.0 CV, 将填料打出至广口瓶中, 添加 0.1 M NaCl 至填料体积比为 50-70% 之间, 也可采用沉降的方法置换保存溶剂。

4.1.3 填料匀浆比测算

将置换好的填料混匀, 取 20 mL 加入到玻璃柱管中, 如 Generik FPLC 10 × 400 mm 玻璃柱管, 打开下堵头, 让水漏出, 直至填料沉降高度不再变化, 用直尺测量柱床高度, 计算填料体积, 例如柱床高度为 14 cm, 填料体积则为 14 × 0.7854 = 10.9956 mL, 匀浆比则为 54.98%。也可用在量筒中沉降过夜的方式测算匀浆比, 沉降时间要保持在 14 - 16 h。

4.1.4 填料需求量计算

$$V_{\text{slurry}} = V / P = S \times H \times F / P$$

V: 目标柱体积

P: 匀浆比

H: 目标装柱高度

S: 柱管横截面积

F: 压缩系数

H: 装柱高度

例如: 内径为 10 mm 的手动柱横截面积为 0.7854 cm², 装柱目标高度为 20 cm, 则填料的需求量为 $V_{\text{slurry}} = 0.7854 \text{ cm}^2 \times 20 \text{ cm} \times 1.15 / 54.98\% = 32.9 \text{ mL}$

*注: 实验室规模、用盐水装柱条件下, 填料的用量按照 1.15 压缩系数计算。

4.1.5 具体操作步骤

4.1.5.1 用移液器吸取 32.9 mL 匀浆液，加入到 Generik FPLC 10 × 250 mm-AF 层析柱管中（使用装柱连接环）；

4.1.5.2 开启 100 cm/h 流速，将上柱头拧紧至柱管上，以 100 cm/h、200 cm/h、300 cm/h...线流速压缩填料，每级流速保持 3.0 min，直到柱压达到 3 Bar 后保持 15 min，关闭层析系统，然后以 1:1.04 的压缩系数（标记的柱床高度为基准）下降柱头至目标高度，装柱完成。

4.2 柱效测试及评价参考标准

Monomix HC60-Boronate 填料有两种粒径规格，层析柱柱效测试方法及评价标准可参考表 2 操作。

表 2.柱效测试方法及评价参考标准

样品	1.0 M NaCl
样品体积	1.0-2.0% CV
流动相	0.1-0.5 M NaCl
流速	60-180 cm/h
检测器	Cond.
合格标准	拖尾因子：0.8-1.8；柱效：≥ 2000 /m

4.3 非理想柱效的解决办法

4.3.1 出现拖尾峰时，解决方法包括：

降低浆液浓度：降低填料在总体积占比；

提高装填流速：增加装柱最高压力。

4.3.2 出现前沿峰时，解决方法与拖尾峰相反。

4.3.3 柱效低：重装层析柱，降低测试流速。

4.3.4 峰分裂：清洗更换滤片，检查测试样品。

4.3.5 层析柱裂开：装柱时提高装柱压力，检查流动相是否脱气，连接柱头时充分排除气泡。

五、 纯化方法优化简介

如果您在使用 Monomix HC60-Boronate 亲和填料过程中遇到问题，请参考下述内容或联系我们。

1) 样品流穿：可能是结合 pH 较低，填料与含有顺式二醇结构的分子的结合力随结合 buffer pH 的升高而提高；

2) 洗脱问题：样品难以洗脱，用 pH=3.0 的甘氨酸洗脱不完全时，可以采用在结合 buffer 中加入 10~100 mM 的山梨醇来竞争洗脱。

六、 在位清洗（CIP）

CIP 的目的是去除柱子上和系统中的顽固结合的杂质、沉淀物或者变性蛋白。这些杂质的累积会影响色谱柱的性能，污染填料。严重的话，会导致柱子堵塞，增加背压。可通过正向或反向的在线清洗来恢复层析柱的性能。常规 CIP 程序可以防止这些杂质在柱子上残留，从而保持色谱柱的载量和分离性能，。

具体在线清洗方法应视杂质的特性而定：

普通杂质及常规清洗：

0.1-0.5 M NaOH 溶液冲洗 1~2 CV；

去离子水和平衡缓冲液各冲洗 5 CV。

强疏水性结合的蛋白、脂类物质：

70%乙醇或 30%异丙醇溶液冲洗 5 CV；

去离子水和平衡缓冲液各冲洗 5 CV。

七、 灭菌

由于 20%乙醇或 10 mM NaOH 保存液不具有杀菌、除热原作用，建议 Monomix HC60-Boronate 在使用前及使用过程中，可以采用 0.5 M NaOH 处理 0.5 h 以减少微生物污染风险。

八、 产品储存

Monomix HC60-Boronate 用 20%乙醇为保存液进行销售。收到填料后请按以下条件进行保存：

未拆封填料：4-25°C，整个包装桶密闭避光保存，有效期 60 个月。

使用后填料：

1) 层析柱保存：4-25°C，20%乙醇或 10 mM NaOH 冲洗 3-5 CV 后密闭保存，为了防止乙醇挥发以及微生物滋生，建议每二个月更换一次新鲜的保存液。因有机溶剂、碱、纯化水等对层析柱管材质可能存在影响且层析柱长期保存柱床容易干裂，不建议长期将填料放在层析柱中保存；

2) 层析柱拆卸后填料：拆卸前层析柱需经过常规的再生及灭菌处理步骤，无菌注射用水冲洗 3-5 CV，用保存溶液 20%乙醇冲洗 3-5 CV，取出层析填料置于已经清洗干净并消毒后的包装容器中，加入保存液 20%乙醇使保存液体积与填料体积接近，4-25°C 密闭避光保存。

九、 销毁及回收

由于 Monomix HC60-Boronate 在自然界很难降解，为保护环境建议采用焚烧处理或者第三方委外处理。

十、 产品订购信息

产品名称	类型	粒径	订货号
Monomix HC60-Boronate	亲和填料	60 μm	285960950

预装柱规格：4.2 mL、5.0 mL；层析介质包装规格：1.0 L、5.0 L、10 L、50 L。



扫码关注公众号

公司信息：

苏州赛分科技股份有限公司

联系电话：400-636-8880

官网网站：<http://www.sepax-tech.com.cn/>