

Monomix Core 系列

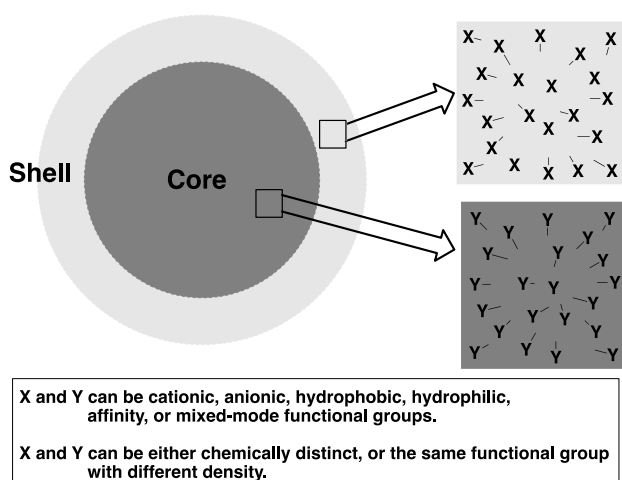
核壳结构复合模式填料使用手册

一、产品介绍

Monomix Core 系列核壳结构复合模式层析介质专为生物大分子的分离纯化而设计，以高聚物微球为基质，粒径为 60 μm，孔径分为 1000 Å 和 500 Å。单分散粒径，具有良好的物理化学稳定性。Monomix Core 系列层析介质表面经赛分科技特殊处理，具有更好的亲水性，最大程度地避免了与生物类样品的非特异性吸附。通过专有的表面修饰专利技术，精确控制关键化学反应，建立壳层、核层的表面化学。两层表面化学官能团类型和密度可以精准控制，确保官能团的高密度和均一性。壳层、核层的厚度可以调节且均一性良好。Monomix Core 系列核壳结构复合模式层析介质可广泛适用于蛋白、抗体、病毒、病毒载体、疫苗、DNA、RNA、质粒等生物大分子的分离和纯化。

介质表面化学组成

图 1. Monomix Core 系列 层析介质核壳结构，核壳两层的表面化学示意图



介质特性

- 📖 核壳结构复合模式层析介质，打破了国际品牌的技术壁垒，有自主知识产权
- 📖 壳层、核层的表面化学官能团可以选择，官能团密度可以调节、精确控制，满足多种生物大分子分离的需要
- 📖 粒径和孔径可以调节、精确控制，满足多种生物大分子分离的需要
- 📖 从分析到小试样品制备到工业化大生产，提供填料一站式解决方案，无缝对接
- 📖 流穿模式下高结合载量
- 📖 高度亲水性表面，可忽略的非特异性吸附，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
- 📖 常规装柱条件下，体积变化小
- 📖 可以根据客户的具体需要和应用（例如使用比较温和的 CIP 条件），快速的定制开发新的层析介质
- 📖 使用常规可聚合单体，原料供应链安全
- 📖 中国扬州生产，生产供应链安全

介质技术参数

表 1. Monomix Core 系列技术参数

填料类型	Monomix Core 1000	Monomix Core 500
基质	聚合物高分子	
平均粒径大小, D_{50} (μm)	60 ± 10	
粒径分布 D_{90}/D_{10}	≤1.5	
平均孔径, 蛋白排阻分子量	1000 Å, 700 KD	500 Å, 400 KD
壳的厚度 (μm)	平均 3.4 μm	
壳表面化学官能团	亲水官能团	
核表面化学官能团	胺基	
核层离子交换当量 $\mu\text{mol Cl}^- / \text{mL medium}$	100-300	
最大线性流速	1000 cm/h	
操作温度	≤40°C	
pH 适用范围	2-13	
操作压力	≤1 MPa (10 bar)	
流动相兼容性	所有常用水性缓冲液。1 M 氢氧化钠, 6 M 盐酸胍, 30% 异丙醇和 70% 乙醇	
长期保存方法	20% 乙醇	
CIP 条件	1 M 氢氧化钠的水溶液或加 0-30% IPA	

二、使用说明

2.1 安全

有关本产品安全使用的信息, 请参阅安全数据书(SDS)。

2.2 用前清洗

本产品一般情况下保存于含 20% 乙醇的水溶液中运输, 在使用前需要清洗。清洗可用 3 倍于介质体积的纯化水冲洗来完成, 此操作可作为层析柱装填的一部分 (见 2.3.2 节)。

2.3 层析柱装填 ($ID \leq 1 \text{ cm}$)

2.3.1 公式:

$$1) \text{ 压缩比} = V_{\text{压缩前}} / V_{\text{压缩后}} \\ = H_{\text{压缩前}} / H_{\text{压缩后}}$$

— $V_{\text{压缩前}}$ 为在固定流速的条件下, 柱床不再向下降时的体积;

— $V_{\text{压缩后}}$ 为在 $V_{\text{压缩前}}$ 的基础上继续将柱床向下压缩后的体积;

2) 计算层析柱的体积 (v): $v = \text{柱内截面积} (\pi r^2) \times \text{柱床高度} (h)$, r 为柱内半径;

2.3.2 装柱前的准备工作

1) 场所: 装柱场所应清洁、无尘, 室温 18°C - 35°C, 湿度 45% - 65%。

2) 装柱设备及管道: 蛋白纯化设备及层析柱管路冲洗干净, 管道连接完毕, 检查管路是否漏液, 压力显示正常。

3) 玻璃层析柱: 柱管各部件分离浸泡于 20% 乙醇 30 min, 纯化水洗净备用。

4) 检测设备: 蛋白纯化仪: 最大流速 36-100 mL/min; 紫外检测器/电导; 相应色谱工作站。

5) 其他: 1 M NaCl + 20% EtOH 水溶液; 去离子水; 天平 (量程 1000 g, 精度 1 g); 量筒 1000 mL; 烧杯 1000 mL;

6) 将填料轻轻搅动, 使其完全分散, 形成均匀浆液, 量取所需要的填料体积, 倒于另一干净烧杯中, 自然沉降后, 倒掉上层 20% 乙醇水溶液, 加入 3 倍体积的纯化水, 轻轻搅拌均匀后自然沉降约 30 min, 倒掉上清液, 重复 3 次;

7) 倾出上层液体后, 倒入装柱缓冲液 (1 M NaCl + 20% EtOH 水溶液), 使填料匀浆浓度为 60%, 搅拌均匀后放置;

8) 柱出口端向下进行垂直固定, 如果匀浆液需要的柱体积不够, 可用套管延长, 用纯化水略微清洗柱管, 纯化水填满柱管, 然后利用重力将水排除。

从上述制备的匀浆液中, 提取含有约 1.4-2 倍 (根

据匀浆浓度)柱床体积 v 的介质的匀浆液,缓慢搅拌均匀浆,在纯化水全部排空之前,用玻璃棒延柱管内壁引流匀浆进入柱管内,一次性全部倒入底部装有筛板的层析柱管中,静置片刻,让填料在层析柱内静置片刻至上层出现分层。

9) (静置片刻不分层也进行下面的操作)封闭出口,用 1 M NaCl + 20% EtOH 水溶液缓慢加入柱内,直至液面到达柱上端口处,形成凸液面,用装柱缓冲液淋洗适配器的 O 型密封圈。将适配器小心的插入柱管内(可微微倾斜适配器插入,防止有气泡进入柱子),缓慢推动至离柱床表面约 1 cm 处,拧入适配器的固定帽进行固定(不要过紧),打开出口,连接层析系统或者装柱泵泵入装柱缓冲液压实柱床。

10) 用 1 M NaCl + 20% EtOH 水溶液,匀浆液先自然沉降到 340 mm,再以 60-380 cm/h 进行装柱最后流速在 5 mL/min,最高压力在 0.3-0.4 MPa 之间,匀浆浓度大于 60%,压缩比在 1.13 左右。赛分科技 Monomix Core 系列填料基质是聚合物,耐压较好,建议用装柱缓冲液以至少 2 倍工作流速冲洗柱床(实际装柱流速要考虑到层析柱和设备耐压情况),冲洗直至柱床不再下降,标记此时柱床高度为 $H_{\text{压缩前}}$,堵住下方出口,将上方适配器向下调整至标记的 $H_{\text{压缩前}}$ 位置,再将适配器向下调整至计算的理论高度 $H_{\text{压缩后}}$ 位置。

11) 压缩比: $H_{\text{压缩前}}/H_{\text{压缩后}}$ 在 1.1-1.2。

层析柱质量评价:使用低分子量或无保留的化合物进行柱效评价,具体操作参数如下:

样品	1.0 M NaCl
样品体积	柱床体积的1.0-2.0%
流动相	0.4 M NaCl 水溶液
流速	60 cm/h
检测	电导检测仪
合格标准	拖尾因子: 0.8-1.5; Monomix 60 μm 柱效: $\geq 3000/\text{m}$

12) 非理想柱效的解决办法:出现拖尾峰时,解决方法包括:

- 降低浆液浓度
- 提高装填流速

- 延长柱中的静置时间

出现前沿峰时,解决方法与拖尾峰相反。

2.4 层析柱使用

2.4.1 根据待分离纯化或分析的样品的具体特性(等电点、离子交换基团等),筛选和优化平衡缓冲液体系;

2.4.2 用约 5 倍柱体积平衡缓冲液,平衡层析柱,直到流出液的电导和 pH 不变,和平衡缓冲液一致;

2.4.3 **样品准备:** 固体样品可溶解于平衡缓冲液中;低浓度样品可用平衡缓冲液透析增加浓度;高浓度样品可用平衡缓冲液稀释。有杂质的样品应经过滤处理,以避免堵塞层析柱、延长层析柱使用寿命;

2.4.4 **上样:** 样品进样量应根据介质的载量和料液中目标物及杂质的含量确定;上样完毕后,继续泵送平衡缓冲液至基线稳定;

2.4.5 **流穿收集:** 如果目标物为分子量较大,为不进孔的物质,收集流穿液。

2.4.6 **洗脱收集:** 如果目标物为分子量较小能进孔,则根据样品特性,选择提高盐浓度或改变 pH 的方法,洗脱附着于层析介质上的样品;

2.4.7 **在线清洗(CIP):** 如有杂质未能通过再生步骤得到清除,造成层析柱阻塞,背压增加或流速下降,可通过正向或反向的在线清洗来恢复层析柱的性能。因为一般情况下,在线清洗会导致柱子的背压增高,所以建议使用 0.5 倍以下的正常应用条件下的线流速。具体在线清洗方法应视杂质的特性而定:

- 1) 对沉淀或变性物质类杂质,用 5 倍柱体积的 1 M NaOH (如结果不好,可用 1 M NaOH+1 M NaCl) 清洗;
- 2) 对以强疏水性结合的杂质,用 5 倍柱体积的 0.5 M NaOH+30% IPA (如结果不好,可用 1 M NaOH+30% IPA) 清洗;

三、产品保存

暂时不使用的层析介质,需保存在 4-35 $^{\circ}\text{C}$ 密闭的含 2% 乙醇或 2% 苯甲醇的水溶液中;已装入层析柱的介质,可保存在 4-35 $^{\circ}\text{C}$ 含 2% 乙醇或 2% 苯甲醇的水溶液中。

四、订购信息

产品系列	产品名称	官能团种类	粒径 / 孔径	订货号
Monomix Core	Monomix Core 1000	阴离子交换	60 μm / 1000 \AA	290160990
	Monomix Core 500	阴离子交换	60 μm / 500 \AA	290160500

包装规格为 5 L 及以下、10 L、50 L，预装柱规格为 1 mL、4.2 mL、5 mL