



Oligo(dT)₂₀ HiPoro Beads

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 操作步骤.....	1
3. 在位清洗.....	3
4. 介质保存.....	3
5. 订购信息及相关产品.....	3

1. 产品介绍

1.1 产品简介

Oligo(dT)₂₀ HiPoro Beads 是专为信使 RNA (mRNA) 高效纯化设计的亲和层析介质。以 50μm 粒径的单分散 PS/DVB 聚合物球为基质，具有良好的物理化学稳定性以及更好的耐压能力。通过表面修饰技术，将 dT20 分子键合到基质表面，通过碱基配对精准捕获 IVT 转录产品中的带 PolyA 尾巴的 mRNA，有效去除质粒 DNA、酶类等杂质。

表 1. Oligo(dT)₂₀ HiPoro Beads 产品信息

组分	条件
基质	聚苯乙烯-二乙烯基苯 (PS/DVB)
配基	dT20
粒径	~50 μm
动态载量 ¹	≥0.75 mg poly A 40/ml 介质
推荐流速范围	50-600 cm/h
最大耐压	≤10.0 MPa (100 bar)
pH 稳定性	2-12
工作温度	2-65℃，避免冷冻
化学稳定性 ²	所有常用缓冲液，1 M 盐酸、2 M 醋酸、100%乙醇、异丙醇等常用有机溶剂； 避免接触强氧化剂、苯甲醇、四氢呋喃。
CIP 在位清洗	0.1 M NaOH
保存条件	20%乙醇，2-8℃

注：1. DBC 测试方法：保留时间 2 min，检测样品为 0.033 mg/ml poly A40（样品溶解于 20 mM Tris-HCl，0.5 M NaCl，1 mM EDTA，pH7.5）；

2. 化学稳定性测试条件：介质分别在表中常规试剂中 40℃浸泡一周后测试，结果：载量是原载量的 90%以上。

1.2 产品特点及优势

- 快速工艺开发：即用型亲和纯化策略，无需复杂条件优化，缩短工艺周期>50%；
- 高载量&高回收率：超大贯穿孔结构提升长链 mRNA 结合容量，温和洗脱保障>90%回收率；
- 高纯度去杂能力：特异性捕获 mRNA，有效清除质粒 DNA、酶类及转录副产物；
- 高温稳定性：耐受≤65℃处理，选择性破坏双链 RNA 等非目标高阶结构；
- 线性放大：提供预装柱、半制备柱、制备柱及散装介质；
- 合规生物安全：全程无动物源原料，符合 FDA/EMA 生物制品原料管控要求。

2. 操作步骤

2.1 层析柱装柱

层析介质在不同场景下适用不同装柱方法，在早期工艺开发阶段推荐使用预装柱。装柱与压力一流速相关信息相关，装柱时也需注意压力变化。

2.1.1 实验室用装柱方法（内径 ID 7.7mm-26mm 实验室用层析柱）

1) 介质用量计算：

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





V: 目标柱体积

P: 匀浆比

S: 柱管横截面积

H: 装柱高度

F: 压缩系数

注：介质出厂时保存在 20%乙醇中，匀浆比为 50%；按照 1.05 压缩系数计算介质用量

2) 介质换液

将介质悬液充分摇匀后量取上述方法计算所得的体积，倒入带有合适孔径滤布的布氏漏斗，抽去保护液，按照约 3 ml 装柱液（20%乙醇）/ml 介质的比例，对介质洗涤，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护液，置换后匀浆比建议为 50-70%。

3) 装柱步骤

a 用 20%乙醇冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1-2 cm 的 20%乙醇。

b 将介质悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。

c 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满装柱液，将储液器盖放置于浆液表面，连接至泵上，避免在储液器中产生气泡。

d 打开层析柱底部出口，开启泵，使其在设定的流速下运行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。（注意：在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%）当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的 20%乙醇。标上柱床高度。

e 关闭泵，关闭层析柱出口。

f 如果使用储液器，去除储液器，然后将适配器置于层析柱中。

g 将适配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入适配器，锁紧适配器接头。

h 装填好的层析柱连接至色谱系统中，进行柱效评价。

2.1.1 柱效评价

1) 装好的色谱柱按下表进行柱效测试；

样品	1 M NaCl
上样量	1.0~2.0%柱体积
洗脱液	0.4 M NaCl
线性流速	100 cm/h
检测器	电导
合格标准	As: 0.8-1.5; Plates(N/m) ≥ 3000

2) 柱效计算；

3) 根据 UV 或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：HETP=L/N, $N=5.54(V_R/V_h)^2$ ；

其中：V_R=保留体积

V_h=半高峰宽

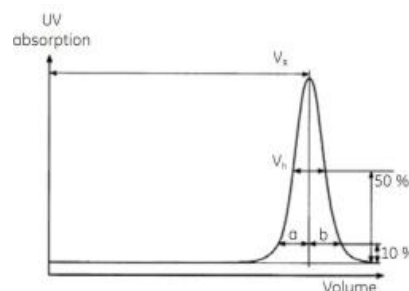
L=柱高

N=理论塔板

V_R 和 V_h 的单位应一致；

As=a/b

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；



2.2 使用方法

Oligo(dT)₂₀ HiPoro Beads 用于 poly A 尾 mRNA 样品的捕获，可参考以下优化策略加快工艺开发进程。

1) 柱平衡：用 3-5 CV 的平衡缓冲液 10 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 1 mM EDTA, pH 7.4 平衡层析柱，至流出液电导率和 pH 不变（与平衡液一致）；

2) 样品准备：

a. 将 mRNA 样品混合物稀释或透析至 10 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 1 mM EDTA, pH 7.4 溶液中；

b. 如果样品需要变性处理，将样品在 65°C 水浴中加热 10-15 分钟，然后立即将样品置于冰上；

3) 上样：以 60-180 cm/h 的线性流速将样品上样至预装柱。

5) 洗涤 1：用 3-5 CV 的 10 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 1 mM EDTA, pH 7.4 缓冲液洗涤柱子；

6) 洗涤 2：用 3-5 CV 的 10 mM Tris-HCl, 100-300 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 7.4 缓冲液洗涤柱子，或洗至流出液电导率稳定；





7) 洗脱：用 3-5 CV 的 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.4 缓冲液或 3-5 CV 的水洗脱结合的 mRNA;

注意：将洗脱缓冲液、洗脱水或柱子加热至 65°C 可提高洗脱效果。

8) 预装柱再生：用 3-5 CV 的水再生柱子;

9) 预装柱清洗：用 3-5 CV 的 0.1 M NaOH 清洗层析柱，然后用 3-5 CV 的平衡缓冲液再平衡;

10) 预装柱保存：将柱子保存在储存液中，置于 2-8°C 条件下储存。

3. 在位清洗

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位清洗来恢复层析柱的性能。因为一般情况下，在位清洗会导致柱子的背压增高，所以建议使用 30-60cm/h 的线性流速。

具体在位清洗方法应视杂质的特性而定：

3.1 普通杂质及常规清洗

每次实验可用 0.1 M NaOH 清洗 3-5 CV，NaOH 清洗后建议先用纯水清洗或平衡液冲洗以快速降低 pH。

3.2 疏水性杂质清洗

可使用 3-5 CV 70%乙醇或 30%异丙醇进行洗涤。在清洁过程中使用低流速（大约是工作流速的一半）。此外，在高盐缓冲液与有机相溶液替换时中间需要用纯化水冲洗层析柱，以避免盐析出产生沉淀。

3.3 灭菌

由于 20%乙醇或 0.1 M NaOH 不具有杀菌、除热原作用，建议可以采用 0.5 M NaOH 处理 0.5-1.0 h 以减少微生物污染风险。

4. 介质保存

Oligo(dT)₂₀ HiPoro Beads 使用 20%乙醇为保存液。收到介质后请按以下条件进行保存：

4.1 未开封介质：2-8°C，整个包装桶密闭保存，有效期 60 个月。

4.2 使用后介质：

4.2.1 层析柱保存：2-8°C，20%乙醇冲洗 3-5 CV 后密闭保存，为了防止乙醇挥发以及微生物滋生，建议每两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，不建议长期将介质放在层析柱中保存。

4.2.2 层析柱拆卸后介质：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，取出层析介质置于已经清洗干净并消毒后的包装容器中，加入保存液 20%乙醇使冲洗液体积与介质体积接近，2-8°C 密闭保存。

5. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
Oligo(dT) ₂₀ HiPoro Beads	SA142005	5 ml
	SA142025	25ml
	SA142100	100ml
	SA142500	500ml
	SA14201L	1L
	SA14210L	10L

