



# Ultradex 200

## 目录

|                   |   |
|-------------------|---|
| 1. 产品介绍.....      | 1 |
| 2. 纯化准备.....      | 1 |
| 3. 纯化流程.....      | 2 |
| 4. 清洗及保存.....     | 2 |
| 5. 订购信息及相关产品..... | 3 |

## 1. 产品介绍

**Ultradex 200** 是一种琼脂糖葡聚糖复合生物微球。该填料将葡聚糖的高选择性和琼脂糖的高化学和物理稳定性结合在一起，使其具有高分辨率、化学性能稳定、非特异性吸附低、易于生产放大等特点，是精纯的良好选择。具体性能见表 1。

表 1. Ultradex 200 产品性能

| 项目         | 性能                                                                                            |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 基质         | 琼脂糖葡聚糖复合生物微球                                                                                  |
| 平均粒径       | ~ 34 $\mu\text{m}$                                                                            |
| 分离范围（球状蛋白） | ~10 Kd- 600 Kd                                                                                |
| 分离范围（线性分子） | ~1 Kd-100 Kd                                                                                  |
| pH 稳定范围    | 3 - 12（工作），1-14（CIP）                                                                          |
| 推荐流速       | $\leq 50$ cm/h                                                                                |
| 储存缓冲液      | 20%乙醇或 2%苯甲醇                                                                                  |
| 储存温度       | 4-30 $^{\circ}\text{C}$                                                                       |
| 化学稳定性      | 在常用的体积排阻色谱水性缓冲液中稳定，包括 1.0 M NaOH、0.1 M HCl、1 M 乙酸、8 M 尿素、6 M 盐酸胍、1% SDS、70% 乙醇、30% 异丙醇、30% 乙腈 |

## 2. 纯化准备

### 2.1 介质准备

介质保存于20%乙醇。装柱前建议将20%乙醇抽滤去除，置换成去离子水。

将75%介质和25%去离子水混匀，真空负压脱气。不要使用粘性试剂装柱。装柱完成后，可以用粘性缓冲液低流速平衡层析柱。

### 2.2 介质装填

装柱方法有两步，第二步应在恒压下进行，柱压见表2。凝胶层析的分辨率随柱床高度的增加而增加。因此，柱床高度最好在60 cm以上。

表2. 推荐装柱流速和压力

| 介质           | 步骤1 | 步骤2           |
|--------------|-----|---------------|
| Ultradex 200 | 30  | 0.25, 2.5, 36 |

层析柱的装填（使用储液器装填）

装柱前根据层析柱直径计算柱子底面积，根据所需装柱高度计算所需介质体积，公式如下：

$$V = 1.15\pi r^2 h$$

V: 所需介质体积 ml

1.15: 压缩系数（不同介质压缩系数不同）

r: 柱管半径 cm

h: 装填高度 cm

- 1) 用去离子水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的去离子水。
- 2) 将填料悬浮起来，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。
- 3) 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口，开启泵，使其在设定的流速下进行。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 2 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。

- 5) 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器，去除储液器，将分配器置于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。
- 8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中，开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

## 2.3 柱效测试

为了检验层析柱的质量，应进行柱效测试，以确定理论塔板数和峰不对称系数。

洗脱液：去离子水

样品：2% (v/v) 丙酮水溶液或者 1 M NaCl 溶液

如图 1 所示计算理论塔板数，用如下公式： $N/m = 5.54 (V_R/V_h)^2 \times 1000/L$

计算峰不对称系数 (AS) 公式如下： $AS = b/a$  (如图 1 所示)

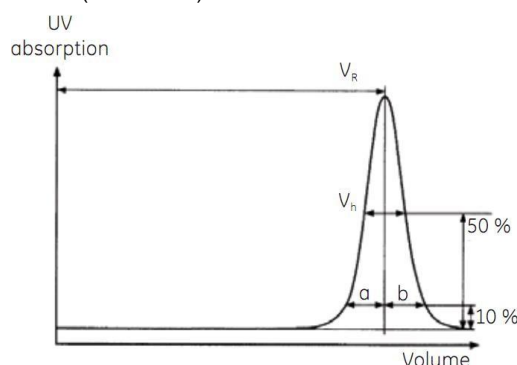


图 1. 柱效检测方法实例

## 3. 纯化流程

### 3.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。

平衡液为蛋白纯化后，用于保护蛋白的溶液，根据客户需求自行选择。

### 3.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤，减少杂质，防止堵塞柱子。

### 3.3 样品纯化

#### 1) 平衡

上样之前，用平衡液至少平衡两倍柱体积，或直到基线稳定。含去垢剂的溶液可能需要平衡更长时间。

#### 2) 上样

上样体积根据目的物和杂质的差别大小会有所不同，一般上样体积为柱体积的 0.5–5%。可以通过上样管或样品环来上样。纯化流速最高不能超过装柱流速的 70%。

#### 3) 再生

再生通常用水冲洗 2 倍柱体积，然后用缓冲液冲洗 2-3 倍柱体积，如果不立刻使用，则用 20%乙醇平衡后，4-30°C 保存。对不同的样品，建议大约 5 次循环后，采用完整的在位清洗 (CIP)。

## 4. 清洗及保存

### 4.1 CIP (Cleaning In Place) 清洗

CIP 是去除以前生产过程中产生的结合过紧密、沉淀或变性的物质。在某些情况下，介质再生后，脂质或变性蛋白质等物质仍可能残留在柱上。

需要根据原料中已知污染物种类来设计特定的 CIP 程序。

当出现下列情况，需要对介质进行在位清洗：





- 柱压增高；
- 填料颜色变化明显；
- 分辨率降低；
- 上接头与凝胶表面之间出现空隙；
- 如果反压增高，在介质清洗前检查阀门、管线等中止情况。

#### 1) 去除疏水性蛋白或脂蛋白

用 0.5 M NaOH 清洗一个柱体积，然后更换去离子水或缓冲液平衡至中性，设定反向流路，流速 20 cm/h。

#### 2) 去除一些强结合的疏水蛋白

用 4-10 倍柱体积的 30% 异丙醇清洗，然后更换纯水清洗去除异丙醇，设定反向流路，清洗流速 10 cm/h。

#### 3) 去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法

使用 2 倍柱体积的 0.5 M NaOH 溶液，按照流速 10 cm/h 冲洗柱子并静止 30-60 min，然后用 2-3 倍柱体积的去离子水或缓冲液冲洗至中性。

### 4.2 保存

CIP 之后的介质如果不使用可以用 20% 乙醇，4-30℃ 保存。

## 5. 订购信息及相关产品

| 产品名称         | 货号      | 规格     |
|--------------|---------|--------|
| Ultradex 200 | SEC0521 | 25 ml  |
|              | SEC0522 | 100 ml |
|              | SEC0523 | 500 ml |
|              | SEC0524 | 1 L    |
|              | SEC0525 | 10 L   |

