
UniPB[®]-80L

硼酸亲和层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0304

版本号：A1



UniPB®-80L

硼酸亲和层析介质

纳微科技硼酸亲和填料 UniPB®-80L 是利用硼酸与顺式二羟基化合物之间的共价配位作用实现目标物的分离纯化。在碱性条件下，硼酸基团能与顺式二羟基结构生成稳定的五元环络合物，导致被某些糖基修饰的蛋白被介质特异性吸附；在酸性条件下络合物被打开，糖蛋白被解吸洗脱。此外，硼酸亲和介质还可以用于含有顺式二羟基化合物的分离纯化，如核苷、核苷酸、和糖类等。

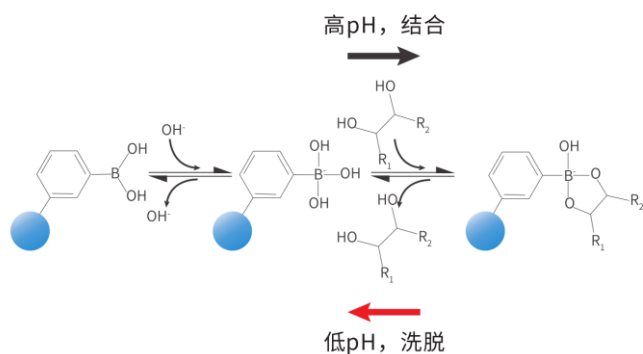


图 1. UniPB®-80L 亲和层析介质结构式。

硼酸亲和介质优势：

- 单分散微球基质，低压，高线性流速，提高生产效率
- 高配基密度，提供更高的操作载量
- 使用寿命长，生产成本低

UniPB®-80L 的技术参数如表 1 所示。

表 1. UniPB®-80L 技术参数。

产品型号	UniPB®-80L
分离原理	硼酸亲和
基质	聚甲基丙烯酸酯 (PMMA)
粒径	80 μm
最大耐压	0.5 MPa

CIP 在位清洗	0.1-0.5 M NaOH
推荐流速	150-750 cm/h
pH 稳定性	2-12
使用温度	2-40 °C

操作指南

匀浆浓度测定

UniPB®-80L 亲和层析介质保存在 20% 乙醇溶液装瓶出售，匀浆浓度 (Cs) 大约 65% (v/v)。匀浆液浓度是指层析介质恒定沉降体积与匀浆液的总体积的比值。如需准确测定 Cs，可以将原容器内介质摇匀，然后转移 10mL 匀浆到量筒里静置过夜，读出沉降体积 Vr，计算匀浆浓度：

$$\text{Eq. 1 } C_s (\%) = 100 \times (V_r/10) = 10 V_r$$

为了获取最佳的装柱效果，推荐使用 0.5 M NaCl 溶液配制 50~70% 的介质匀浆液。

介质前处理

计算所装色谱柱的柱体积 (Vc)：

$$\text{Eq. 2 } V_c = h \times \pi r^2$$

h: 色谱层析柱高度；r: 色谱层析柱半径

计算所需匀浆体积 (Vs)：一般情况下，层析介质在压力作用下都会被压紧导致体积收缩，为了获得紧密的柱床，推荐填料的体积过量一些，压缩比 (Compression factor, CF) 一般为 1.05-1.1。

$$\text{Eq. 3 } V_s = 100 \times (V_c \times CF)/C_s$$

制备装柱介质匀浆：将原容器中层析介质摇匀，量取所需原液体积 Vs 至适当容器中，静置让介质颗粒自然沉降后，倾斜倒去上清液；用 5 倍柱

体积以上的装柱溶液，如 0.5 M NaCl，清洗介质以去除原保存液，再用装柱溶液调整匀浆浓度到 50-70% (v/v)。

层析柱装填方法：(以 NmXK 16/20 层析空柱为例)

使用装柱溶液快速冲洗柱子末端的接头以除去气泡，然后关闭柱子出口，并在柱子底部保留 1-2 cm 装柱液。

用装柱溶液排除上柱头管路中的气泡。

重悬介质，用玻璃棒紧靠柱内壁引流，将胶悬液连续倒入层析柱中，用装柱溶液清洗柱壁并填满柱管，然后安装上柱头。注意操作过程中避免混入气泡。

打开柱子底部的出口，开动层析系统泵，在建议压力范围内用恒流或恒压方法进行压柱。待柱床稳定后，在胶液界面作标记。

关闭泵和柱子出口，旋松上柱头入口管线，用上柱头推压柱床至标记线下 2-3 mm，然后旋紧上柱头入口管线。

柱效评价

装好的层析柱先使用 2 CV 0.5 M NaCl 溶液平衡，再用 2.0 M NaCl 以 100 cm/h 流速进行柱效测试；亦可使用去离子水平衡层析柱并用丙酮溶液做测试。具体测试参数详见表 3:

表 2. UniPB®-80L 层析色谱柱的柱效测试条件。

样品	5% (v/v)丙酮的水溶液或 2 M NaCl
上样量	1 ~ 5 %柱体积
流动相	去离子水或 0.5 M NaCl
线性流速	50 ~ 200 cm/h
检测	5 %丙酮上样: UV @ 280 nm 2 M NaCl 上样: 电导检测仪
合格标准	As: 0.8-1.5; Plates (N/m) : >2500

使用方法

冲洗并平衡:

使用之前依次用洗脱液 (如 100 mM 甘氨酸, pH 3.0) 和平衡液 (如 100 mM NH₄Ac, 500 mM NaCl, pH9.0) 冲洗并平衡 UniPB®-80L 柱;

进样:

样品的上样量不超过介质 DBC10%的 0.8 倍;

清洗:

5 CV 平衡液 (如 100 mM NH₄Ac, 500 mM NaCl, pH9.0);

洗脱:

5 CV 100 mM 甘氨酸, pH 3.0;

再生 (Cleaning-in-place, CIP):

3-5 CV 0.1-0.5 M NaOH+2M NaCl 溶液清洗, 如有需要可以适当延长浸泡时间;

再平衡:

5 CV 平衡液 (如 100 mM NH₄Ac, 500 mM NaCl, pH9.0) 清洗至基线;

保存:

使用结束后, 先用纯水替换层析柱中缓冲盐, 然后用 20%乙醇保存。

长期储存

介质密封保存在 20 %乙醇, 建议保存温度为 4~25 °C。注意防止乙醇挥发以及微生物生长, 建议 3 个月更换一次 20 %乙醇。

注意:使用过程中, 所用样品及流动相必须用孔径为 0.45 μm 滤膜过滤。

故障排除

如果您在使用 UniPB®-80L 产品遇到任何问题，请参考下表进行解决或联系我们。

现象	原因分析	建议措施
柱压升高	流速过高	降低流速
	仪器的在线滤器堵塞	去除杂质并清洗，或者替换，在使用前对样品和缓冲液进行过滤
	柱床被压缩	重新填充柱子
	层析柱使用过久	更换层析柱或更换层析介质
	泵和收集器之间的阀门未打开	打出口
出现柱上沉淀	疏水性蛋白、脂蛋白或者脂类累积	用非离子型表面活性剂冲洗（如 0.1% Tergitol 15-S-9 或 Triton X-100 reduced/还原态），或者 0.5 M NaOH，或者 1 M 盐酸胍；然后使用至少 5 倍柱体积经过消毒过滤的结合缓冲液（pH 7-8）冲洗
	蛋白质变性沉淀	使用 2 倍柱体积的 50 mM NaOH，或者 50 mM NaOH 和 1.0 M NaCl，或者 0.1 M H ₃ PO ₄ ，或者 6 M 盐酸胍和 10 mM NaOH 冲洗柱子，至少冲洗 10 分钟以上；然后使用至少 5 倍柱体积经过消毒过滤的结合缓冲液（pH 7-8）冲洗

订货信息

产品型号	包装	货号
UniPB®-80L	30 mL	04000-080001-2030
	50 mL	04000-080001-2050
	100 mL	04000-080001-2100
	300 mL	04000-080001-2300
	500 mL	04000-080001-2500
	1 L	04000-080001-1001
	5 L	04000-080001-1005
	10 L	04000-080001-1010
	50 L	04000-080001-1050
	100 L	04000-080001-1100

注：可以提供 7.7 mm × 22 mm 、 16 mm × 25 mm 、 7.7 mm × 100 mm 的层析预装柱。更多规格型号或定制需求，请联系我们。

苏州纳微科技股份有限公司

全国咨询热线：400-828-1622

邮箱：info@nanomicrotech.com

(本公司产品仅限科研或工业使用)

中文网站：www.nanomicrotech.com

英文网站：en.nanomicrotech.com

2022-苏州纳微科技股份有限公司版权所有

总部地址：苏州工业园区百川街2号 215123

2022年6月第二版

