

使用说明书

离子交换填料

BioPro IEX Q/BioPro IEX S

① 前言

非常感谢您这次选用 BioPro IEX Q/S 离子交换填料系列产品。BioPro IEX Q/S 离子交换填料是一款在新开发的亲水性聚合物基质上引入强阴离子交换基团(季铵基)/强阳离子交换基团(磺酸基)的非常适合于分离纯化蛋白质/抗体的产品。本公司在 BioPro IEX Q/S 离子交换填料的制备过程中进行了严格的质量管理，保障了为客户提供最优质的产品。为了使提供给您的产品最大限度的发挥其性能，请认真阅读本产品的使用说明书。

② 产品规格一览

项 目	强阴离子交换填料 BioPro IEX Q	强阳离子交换填料 BioPro IEX S
颗粒径 (μm)	75	
基质	亲水性多孔聚合物	
离子交换基团	$-\text{R}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	$-\text{R}-\text{SO}_3^-$
pH 使用范围	2.0 ~12.0	2.0 ~12.0
温度使用范围 ($^\circ\text{C}$)	4~40	4~40
压力使用上限 (MPa)	0.3	
出厂溶剂	20% 乙醇的水溶液	
用途	初期到中期阶段的分离纯化	

③ 装填方法

3-1 填料的前处理

推荐前处理的溶剂：蒸馏水、缓冲盐、20%乙醇溶液

- 量取沉淀的填料量应为装填柱容积的1.10~1.15 倍。将悬浊填料移至可容纳5倍以上匀浆液的容器内，静置后确认填料量。
- 加入4 倍填料量的前处理溶剂。
- 使用搅拌棒，轻搅混匀。为防止造成填料破损，不可使用锋利物及搅拌子。
- 静置至填料沉淀。静置时间约需60 分钟。
- 倾斜倒出上清液。
- 重复步骤 2~5，至上清液无浑浊。

3-2 匀浆液的配制和色谱柱的装填

推荐装填溶剂：高离子强度溶剂（使用洗脱液中离子强度最高的溶剂，如1M NaCl, 0.5M Na₂SO₄等）

- 在3-1填料的前处理步骤中，如使用的溶剂为20%乙醇，则再使用蒸馏水过滤洗净；如使用的溶剂为蒸馏水或缓冲盐，则省略此步骤。
- 使用3 倍填料量的装填溶剂过滤洗净。
- 添加装填溶剂配制成浓度为30~50%（体积比）的匀浆，缓缓灌入色谱柱内。此时应注意避免气泡产生。
- 使用制备条件下的2 倍流速通液至填料层稳定。
- 当使用带活塞型的轴向压缩色谱柱时，通过压缩有可能获得更佳的柱性能。

注）根据装填柱的不同，装填方法有可能会发生变更，请结合装填柱的使用说明书灵活掌握。

3-3 色谱柱性能的确认（装填状态的评价）

装填完成后，请进行色谱柱性能评价，确认理论塔板数（N）、峰形。如理论塔板数（N）、不对称因子（As）未达到目标值，请重新探讨装填条件（如匀浆浓度、装填溶剂进行通液时使用的流速等）。

装填评价的检测条件例

条件例 1		条件例 2	柱性能		
洗脱液	0.5 M NaCl	强阴离子交换填料 (Q): 20 mM Tris-盐酸缓冲液 (pH 8)	理论塔板数 (N/m)	$\geq 3,500$	
		强阳离子交换填料 (S): 20 mM 磷酸缓冲盐 (pH 7)			
样品	1 M NaCl	甲酰胺(2 μ L/mL)			
检测器	导电率	UV at 220 nm			
线流速	70~90 cm/h 左右		不对称因子 (As)	0.7~1.4	
进样量	柱床体积的1%				

* 以上数据仅作参考指标，实际上即使在此范围以外，如果使用条件合适仍可获得足够的分离性能。

* 系统的流路造成的样品扩散（柱外扩散）会对柱性能有很大影响。当更改装填条件后柱性能仍没有改变时，请确认管路内径及设备性能是否适合用于此柱性能的评价。

④ 平衡与洗脱

- 分离前的色谱柱平衡，使用 5~10 倍柱体积的初始洗脱液通液。
- 通常情况下使用 20~50 mM 的缓冲盐作为初始流动相以使目标样品能吸附在柱子上，然后采用盐浓度梯度洗脱（一般梯度洗脱为将氯化钠浓度从 0M 升高到 0.5 M）或 pH 梯度洗脱分离。为了除去末端梯度洗脱液未能洗脱下来的残留杂质，推荐在每次分离后，使用含有 1 M 左右氯化钠的缓冲盐通液。
- 可往洗脱液中添加的水溶性有机溶剂的最大比率为 30% 左右。在加入有机溶剂前请确认是否会引起缓冲盐的析出。

⑤ 清洗

由于样品中脂溶性物质及溶解性小的物质残留在色谱柱内时，可能会造成保留时间及峰形的改变、柱压的升高。出现这种情况时，建议按下列方法清洗与再生。

5-1 常规清洗方法

• 在线清洗 (Cleaning in place, CIP)

如色谱柱性能发生了变化或需要长期保存时，推荐在线清洗（建议在不接检测器的状态下进行清洗）。具体步骤为：首先使用 1~2 M NaCl 进行 3~5 倍柱体积的通液，之后使用 0.1~0.5 M NaOH 通液 3~5 倍柱体积。使用 NaOH 清洗时，可通过提高浓度 (~1M)、降低流速延长接触时间提高清洗效果。然后再使用 3~5 倍柱体积的 1~2M NaCl 置换成中性。中和完成后，使用洗脱液进行充分平衡后使用。如需长期保存，中和完成后，先使用蒸馏水清洗再置换成 20% 乙醇保存。

当存在色谱柱污染时，有可能造成柱压升高的状况，此时建议适当降低流速通液。

• 批处理法

将填料浸泡在 3~5 倍填料量的清洗液中，轻搅混合。静置一段时间后，将上清液倾滤倒掉。如此重复 2、3 次操作。清洗液可使用与在线清洗 CIP 相同的溶剂。

5-2 使用表面活性剂或其他添加剂进行清洗

- 可添加蛋白质变性剂，如尿素 (≤ 8 M)、盐酸胍 (≤ 6 M)、非离子型表面活性剂、阳离子型表面活性剂、阴离子型表面活性剂等。不可使用氧化剂。
- BioPro IEX SmartSep Q 内不可添加阴离子型表面活性剂、BioPro IEX SmartSep S 内不可添加阳离子型表面活性剂。
- 因柱内存在污染或使用清洗溶剂的种类（高粘度溶剂等）而造成柱压升高的状况，建议适当降低流速通液。

⑥ 保存

请将本产品密封到出厂瓶中，保存溶剂为 20% 乙醇水溶液，保存温度为 4~35 °C。