

## MC-SEC 体积排阻填料使用手册

生物大分子样品的体积排阻填料选择，易清洗，重复使用率高。

### 一、产品介绍

MC-SEC 填料以聚甲基丙烯酸酯为基质，经过亲水修饰而成，具有更好的物理、化学稳定性，能装填更高的柱效，对生物大分子的分离纯化具有更高的分离效率和回收率。

MC-SEC 填料相比琼脂糖填料可以耐受更高的压力和流速，在工业纯化生产中可以极大地展现降低成本和减少生产时间的优点。

MC-SEC 填料分为单分散 Monomix 系列以及多分散 Polar 系列。可以作为快速分离蛋白、多糖以及其他

### 介质特性

- 高机械强度
- 刚性基质可耐受高压和高流速
- 高批间重现性
- 易于放大
- 高度亲水性表面，可忽略的非特异性吸附
- 常规装柱条件下，体积变化小
- 产品供应能力：>100 L

### 介质技术参数

表 1. Monomix MC-SEC 技术参数

填料类型	Monomix MC30-SEC		Monomix MC60-SEC	Polar MC30-SEC	Polar MC60-SEC
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯				
粒径大小(μm)	30		60	30	60
孔径大小(Å)	500	1000	1000	800	800
葡聚糖分离范围 (dalton)	2.5×10 <sup>3</sup> -5×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>4</sup> -5×10 <sup>6</sup>	1×10 <sup>4</sup> -5×10 <sup>6</sup>	5×10 <sup>3</sup> -1.5×10 <sup>6</sup>	5×10 <sup>3</sup> -1.5×10 <sup>6</sup>
球蛋白分离范围 (dalton)	1.5×10 <sup>4</sup> -5×10 <sup>6</sup>	5×10 <sup>4</sup> -8×10 <sup>6</sup>	5×10 <sup>4</sup> -8×10 <sup>6</sup>	5×10 <sup>4</sup> -7.5×10 <sup>6</sup>	5×10 <sup>4</sup> -7.5×10 <sup>6</sup>
最大线性流速	1000 cm/h				
操作温度	≤40°C				
pH 适用范围	2-12				
pH CIP 范围	1-14				
操作压力	Monomix 系列 ≤ 1 MPa(10 bar); Polar MC 系列 ≤ 3 MPa(30 bar)				
流动相兼容性	溶于常规水相和有机相，在以下试剂中稳定：0.5 M NaOH, 0.1 M HCl, 1 M 醋酸, 8 M 尿素, 6 M 盐酸胍, 20% 乙醇, 30% 异丙醇, 30% 乙腈				
长期保存方法	50% (v/v) ，保存于 20% 乙醇中				
清洗	0.5 M HCl or 0.1-0.5 M NaOH ，强疏水性结合的杂质可用 0.1-1% 的吐温或 Triton X-100 清洗				

## 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倍于介质体积的去离子水冲洗来完成，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

2.3.1 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 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，倒于另一干净玻璃或塑料透明器皿中，自然沉降后，倒掉上层20%乙醇水溶液，加入3倍体积的去离子水，轻轻搅拌均匀后自然沉降约30分钟，倒掉上清液，如此重复3次；

2.3.3 倾出上层液体后，倒入装柱缓冲液（1.0 M NaCl 溶液），使填料匀浆浓度为60-70%，搅拌均匀后放置12小时以上（过夜）；

2.3.4 从上述制备的匀浆液中，按下表提取含有适量体积的介质的匀浆液，一次性倒入底部装有合适孔径筛板的层析柱管中，让液体流出，介质沉降稳定；

样品	提取介质体积与柱床比
Monomix MC30-SEC	1.10
Monomix MC60-SEC	1.08
Polar MC30- SEC	1.05
Polar MC60- SEC	1.05

2.3.5 在层析柱管顶部装入分配器，压实介质，连通输液泵；

2.3.6 用装柱缓冲液以2倍工作流速冲洗柱床2-3个柱体积使其稳定，过程中可以调节分配器高度，以保证柱床紧密度；不建议使用抽吸方法或仅使用重力沉降来填充色谱柱，特别是对于柱床高度超过10cm的柱子；

2.3.7 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% (v/v) 丙酮水溶液	0.8 M NaCl
样品体积	柱床体积的1.0-2.0%	柱床体积的1.0-2.0%
流动相	水或稀释缓冲液	水或0.5 M NaCl 水溶液
流速	180 cm/h	180 cm/h
检测	280 nm 紫外检测仪	电导检测仪

合格标准	拖尾因子：0.8-1.5；
	30 μm柱效：≥ 4000 /m
	60 μm柱效：≥ 2000 /m

2.3.8 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，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 **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：

- a) 对沉淀或变性物质类杂质，用5倍柱体积的0.1-0.5 M NaOH 清洗，然后用至少5倍柱体积的0.22 μm 过滤的平衡缓冲液（pH 6-8）洗涤；
- b) 对以强疏水性结合的杂质，用2倍柱体积的非离子型去污剂（例如浓度为0.1-1%的吐温或Triton X-100）洗涤柱子，然后立即用至少5倍柱体积的无菌过滤平衡缓冲液（pH 6-8）洗涤；也可用3-4个柱体积的70%乙醇或30%异丙酮清洗，然后立即用至少5倍柱体积的无菌过滤的平衡缓冲液（pH 6-8）洗涤。

## 三、产品保存

暂时不使用的层析介质，需保存在4-35℃密闭的含20%乙醇的水溶液中；已装入层析柱的介质，可保存在4-35℃含20%

乙醇或2%苯甲醇的水溶液中。

#### 四、订购信息

产品名称	粒径/孔径	订货号
Monomix MC30-SEC	30 $\mu\text{m}$ , 500 $\text{\AA}$	280130500
	30 $\mu\text{m}$ , 1000 $\text{\AA}$	280130950
Monomix MC60-SEC	60 $\mu\text{m}$ , 1000 $\text{\AA}$	280160950
Polar MC30-SEC	30 $\mu\text{m}$ , 800 $\text{\AA}$	190130800
Polar MC60-SEC	60 $\mu\text{m}$ , 800 $\text{\AA}$	190160800

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。