

Agarosix MC75-MMA 填料产品说明书

一、 产品简介

Agarosix MC75-MMA 复合阴离子交换填料专门为特殊生物大分子样品纯化而设计，该填料基质为粒径 75 μm 的 6%球形琼脂糖凝胶组成，具有高度的生物相容性和物理化学稳定性。Agarosix MC75-MMA 复合阴离子填料同时具有疏水及阴离子交换性能，合适的间隔臂选择使生物分子能更加有效地与可及的配位体结合，可广泛适用于抗体、蛋白、核酸等生物样品的分离和纯化。

层析介质特点

- 📖 极好的生物相容性
- 📖 高结合载量、高分辨率和高回收率
- 📖 高批间重现性、易于放大
- 📖 产品供应能力：> 100 L

二、 安全

有关本产品安全使用的信息，请参阅安全数据书(SDS)。

三、 产品性质及特征参数

3.1 层析介质化学结构与技术参数

Agarosix MC75-MMA 为复合阴离子层析介质，配基为苯基及季铵盐混合基团。结构示意图如图 1 所示，具体产品技术参数见表 1。

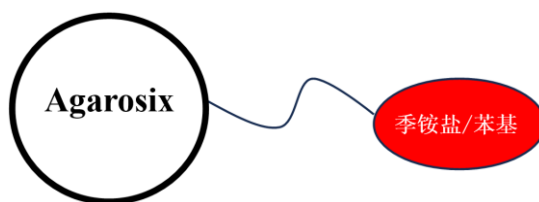


图 1.层析介质配基结构示意图

表 1. Agarosix MC75-MMA 层析介质技术参数

产品名称	Agarosix MC75-MMA
离子交换种类	复合阴离子
官能团	季铵盐/苯基
平均粒径	~75 μm
离子交换容量 (eq/L)	≥ 0.08
流速/压力关系*	600 cm/hr (运行压力 2 bar)
动态载量* (/mL 填料)	≥ 30 mg BSA
pH 稳定性 (操作)	3-12
pH 稳定性 (CIP)	2-14

工作温度	4-35℃，避免冷冻
工作压力	≤ 0.3 MPa (3.0 bar)
化学稳定性*	常规缓冲盐体系； 其它溶剂：1.0 M NaOH、8.0 M 尿素、6.0 M 盐酸胍、DMSO、0-100% 乙醇，1.0 M 乙酸等
保存条件	具体见“七、产品储存”内容
运输条件	4-35℃，50%(v/v)保存于 20%乙醇或 2%苯甲醇
典型应用方向	抗体领域、重组蛋白、核酸

- *注：1. DBC 测试方法：Agarosix MC75-MMA 产品线性流速为 180 cm/h，上样液为含 2.0 mg/mL BSA 的 50 mM Tris 盐缓冲液(pH = 8.5)，150 mM NaCl；
2. 最大流速测试方法：column height: 200 mm, pressure 2 bar, mobile phase 1 M NaCl；
3. 填料分别在表中其它试剂中 40℃浸泡一周后测试，结果：载量在原载量的 90%以上。

四、层析柱装柱

层析介质在不同场景下适用不同装柱方法，实验室装柱方法与规模化生产用装柱有较大差异。装柱与压力-流速相关，装柱时也需注意压力变化，不同流动相对填料压力也有较大差异，注意流动相切换及装柱时压力变化。

4.1 实验室用装柱方法（内径 ID 6.6 mm -25 mm 实验室用层析柱）

4.1.1 准备工作

- 4.1.1.1 装柱设备及层析柱：检查蛋白纯化仪是否正常，特别是压力检测模块和电导检测模块；
- 4.1.1.2 缓冲液配制：配制足量的缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液；1.0 M NaCl 水溶液。

4.1.2 置换保存溶剂

Agarosix MC75-MMA 填料出厂时保存在 20%乙醇中，体积比为 50%，装柱前需将 20%乙醇置换为 0.1 M NaCl。快速置换方法：将填料混合后取所需匀浆液倒入柱管中，安装好柱头并用 0.1 M NaCl 冲 5.0 CV,将填料打出至广口瓶中，添加 0.1 M NaCl 至填料体积比为 50-70%之间，也可采用沉降的方法置换保存溶剂。

4.1.3 填料匀浆比测算

将置换好的填料混匀，取 20 mL 加入到玻璃柱管中，如 Generik FPLC 10 × 400 mm 玻璃柱管，打开下堵头，让水漏出，直至填料沉降高度不再变化，用直尺测量柱床高度，计算填料体积，例如柱床高度为 14 cm，填料体积则为 $14 \times 0.7854 = 10.9956$ mL，匀浆比则为 54.98%。也可用在量筒中沉降过夜的方式测算匀浆比，沉降时间要保持在 14-16 h。

4.1.4 填料需求量计算

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

V: 目标柱体积

P: 匀浆比

H: 目标装柱高度

S: 柱管横截面积

F: 压缩系数

H: 装柱高度

例如：内径为 10 mm 的手动柱横截面积为 0.7854 cm^2 ，装柱目标高度为 20 cm，则填料的需求量为 $V_{\text{slurry}} = 0.7854 \text{ cm}^2 \times 20 \text{ cm} \times 1.15 / 54.98\% = 32.9 \text{ mL}$

***注：**实验室规模、用盐水装柱条件下，填料的用量按照 1.15 压缩系数计算。

4.1.5 具体操作步骤

4.1.5.1 用移液器吸取 32.9 mL 匀浆液，加入到 Generik FPLC 10 × 250 mm-AF 层析柱管中（使用装柱连接环）；

4.1.5.2 开启 100 cm/h 流速，将上柱头拧紧至柱管上，以 100 cm/h、200 cm/h、300 cm/h...线流速压缩填料，每级流速保持 3.0 min，直到柱压达到 3.0 Bar 后保持 15 min，关闭层析系统，然后以 1:1.04 的压缩系数（标记的柱床高度为基准）下降柱头至目标高度，装柱完成。

4.2 中试装柱方法（内径 ID 100 mm -300 mm 手动柱填装）

4.2.1 准备工作

4.2.1.1 场所：装柱场所应清洁、无尘，室温 18°C-35°C，湿度 45%-65%；

4.2.1.2 装柱设备及管道：蛋白纯化设备及层析柱管路冲洗干净，管道连接完毕，检查设备管路是否漏液，必要时试漏，压力等各参数显示正常；

4.2.1.3 层析柱排气泡：层析柱清洗干净，排除上下塞板处气泡待用；

4.2.1.4 QC 检测设备：低压层析系统；

4.2.1.5 缓冲液配制：0.1 M NaCl 水溶液；1.0 M NaCl 水溶液；

4.2.2 置换保存溶剂

Agarosix MC75-MMA 填料出厂时保存在 20%乙醇中，体积比为 50%，装柱前需将 20%乙醇置换为 0.1 M NaCl。对于直径为 100 mm-300 mm 内径手动柱置换方式可以为：将填料混合后取所需匀浆液倒入柱管中，打开出口阀，使液体漏出，用 0.1 M NaCl 置换三次。

4.2.3 填料需求量计算

$$V_{\text{slurry}} = V / 50\% = S \times H \times F / 50\%$$

V：目标柱体积

H：目标装柱高度

S：柱管横截面积

F：压缩系数

H：装柱高度

例如：内径为 200 mm 的手动柱横截面积为 314 cm^2 ，装柱目标高度为 18 cm，则填料的需求量为 $V_{\text{slurry}} = 314 \text{ cm}^2 \times 18 \text{ cm} \times 1.20 / 50\% = 13.6 \text{ L}$

***注：**填料保存在 20%乙醇水中，填料的用量按照 1.20 压缩系数计算。

4.2.4 具体操作步骤

4.2.4.1 如置换保存溶剂过程中所述，重新匀浆后关好底阀使填料自然沉降，待胶面下降距离大于 5.0 cm 后安装排好气泡的柱头，拧紧密封圈，打开底阀，开启低压层析系统，以 0.1 M NaCl 水溶液为流动相、100 cm/h 线速度加速填料沉降，柱床沉降稳定后标记柱床高度；

4.2.4.2 关闭层析系统，等柱压降为零后关闭底阀，旋转柱头上的四通阀至排液管，然后以 1:1.13 的压缩系数（标记的柱床高度为基准）下降柱头至目标高度，装柱完成。

4.3 柱效测试及评价参考标准

Agarosix MC75-MMA 填料装柱后，层析柱柱效测试方法及评价标准可参考表 2 操作。

表 2.柱效测试方法及评价参考标准

样品	1.0 M NaCl
样品体积	1.0-2.0%CV
流动相	0.1-0.5 M NaCl
流速	60-180 cm/h
检测器	Cond
合格标准	拖尾因子：0.8-1.8 柱效：≥ 2000 /m

4.4 非理想柱效的解决办法

4.4.1 出现拖尾峰时，解决方法包括：

降低浆液浓度：降低填料在总体积占比

提高装填流速：增加装柱最高压力

4.4.2 出现前沿峰时，解决方法与拖尾峰相反

4.4.3 柱效低：重装层析柱，降低测试流速

4.4.4 峰分裂：清洗更换滤片，检查测试样品

4.4.5 层析柱裂开：装柱时提高装柱压力，检查流动相是否脱气，连接柱头时充分排除气泡

五、 在位清洗（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：

常规杂质：

用 5.0 倍柱体积的 0.5 M NaOH 清洗，然后进行保存或平衡操作。

沉淀或变性物质类杂质：

用 5.0 倍柱体积的 1.0 M NaOH（如达不到清洗效果，可用 1.0 M NaOH+1.0 M NaCl）清洗，然后进行保存或平衡操作。

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 6.0-8.0）洗涤；也可用 3 - 5 倍柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗，纯化水将有机试剂替换后进行保存或平衡操作。

六、 灭菌

由于 20%乙醇或 10 mM NaOH 保存液不具有杀菌、除热原作用，建议 Agarosix MC75-MMA 在使用前及使用过程中，可以采用 0.5-1.0 M NaOH 处理 0.5~1.0 h 以减少微生物污染风险。

七、 产品储存

产品用 20%乙醇为保存液进行销售。收到填料后请按以下条件进行保存：

未拆封填料：4-35°C，整个包装桶密闭保存，有效期 60 个月；

使用后填料：

1) 层析柱保存：4-35°C，20%乙醇或 10 mM NaOH 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，建议每二个月更换一次新鲜的保存液。因有机溶剂、碱、纯化水等对层析柱管材质可能存在影响且层析柱长期保存柱床容易干裂，不建议长期将填料放在层析柱中保存；

2) 层析柱拆卸后填料：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，取出层析填料置于已经清洗干净并消毒后的包装容器中，加入保存液 20%乙醇使保存液体积与填料体积接近，4-35°C密闭保存。

八、 销毁及回收

由于 Agarosix MC75-MMA 在自然界很难降解，为了保护环境建议采用焚烧处理或者第三方委外处理。

九、 产品订购信息

产品名称	类型	粒径	订货号
Agarosix MC75-MMA	复合阴离子交换	75 μm	251075990

预装柱规格：4.2 mL、5.0 mL；层析介质包装规格：1.0 L、5.0 L、10 L、50 L。



扫码关注公众号

公司信息：

苏州赛分科技股份有限公司

联系电话：400-636-8880

官网网站：<http://www.sepax-tech.com.cn/>