

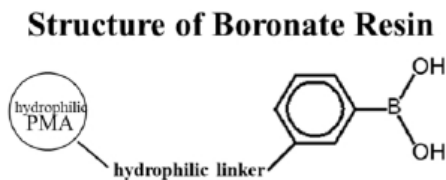
# Polar MC-Boronate 硼酸亲和填料使用手册

## 一、产品介绍

赛分 Polar MC-Boronate 硼酸亲和和色谱层析介质是以亲水性的聚甲基丙烯酸酯为基质，表面键合 3-氨基苯硼酸，用于纯化或分析带有顺式二元醇基团的化合物，如糖蛋白、核酸及糖类。介质粒径有 30 μm、60 μm 两种规格，孔径为 800 Å。此介质耐压性好，具有良好的物理化学稳定性。介质表面具有高度亲水性，避免了与生物类样品的非特异性吸附。介质的葡聚糖的排阻极限大约为  $2 \times 10^6$ ，球形蛋白的排阻极限大约为  $5 \times 10^6$ ，可以用于工业纯化。另外赛分可以提供高分辨率的分析层析色谱柱，产品为 Monomix MC-Boronate，粒径为 10 μm，孔径为 500 Å、1000 Å。

## 填料结构

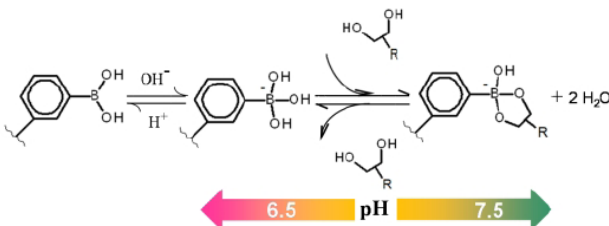
图 1. Polar MC-Boronate 硼酸亲和和介质化学组成示意图



## 纯化机理

赛分 Polar MC-Boronate 硼酸亲和和介质与顺式二元醇化合物的亲和作用，依赖于 pH 条件。其机理是，在偏碱性的条件下，顺式二元醇化合物分子的两个羟基-OH 与硼酸基团配位，形成一个五元环，这种五元环在 pH>7.5 的缓冲液中能够稳定存在，而当 pH 降低到 6.5 以下后，就会发生解离断裂。Mg<sup>2+</sup>可以增强这种五元环的结合能力，结合到介质上的二元醇分子也可以通过一些带二元醇的化合物洗脱下来，如山梨醇和甘露醇。

图 2. Polar MC-Boronate 硼酸亲和和介质作用原理示意图



## 介质特性

- 📖 高结合载量和极好的生物相容性
- 📖 刚性基质可耐受高压和高流速
- 📖 高分辨率、高柱效和高回收率
- 📖 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

## 技术参数

填料类型	Polar MC30-Boronate	Polar MC60-Boronate
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯	
粒径大小	30 μm	60 μm
孔径大小	800 Å	
Boronate 载量	30-80 μmol/mL 填料	
最大线性流速	1800 cm/h	
操作温度	≤40°C	
pH 适用范围	2-12	
操作压力	≤3 Mpa(30 bar)	
流动相兼容性	1. 与水溶液，水和乙腈，丙酮或甲醇的混合物相容。典型缓冲液：磷酸盐，乙酸盐和 HEPES, MES, 不含伯胺的缓冲盐体系。 2. 使用 pH <6.5 的缓冲液或含顺式二元的试剂可能会影响吸附。	
长期保存方法	50% (v/v)，保存于 20% 乙醇中	
再生	一般用 2.0-3.0 M NaCl	
清洗	一般在 2-10°C 条件下，用 3-10 倍柱体积的 0.1-0.5 M NaOH 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

本产品一般情况下是在含 20% 乙醇的水溶液中运输的，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(0.5 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, 提取含有约 1.05 倍于柱床体积的介质, 加入匀浆液搅拌均匀后, 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;

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 10 厘米的柱子;

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 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; Polar MC30 $\mu\text{m}$ 柱效: $\geq 4000 / \text{m}$ Polar MC60 $\mu\text{m}$ 柱效: $\geq 2000 / \text{m}$	

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。一般为含 0.1-0.2 M NaCl 的 0.01 M 磷酸钠缓冲液, pH>7.5。通常, 吸附强度与 pH 和离子强度成反比。略微增加的离子强度可以帮助去除紧密结

合的污染物。还可添加非离子型洗涤剂 (Tween®20, Triton®X 等) 以提高溶解度;

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 洗脱: 根据样品特性, 选择洗脱方法, 洗脱附着于层析介质上的样品。一般用 2.0-3.0 M NaCl 洗脱再生。如果使用了其他含顺式二醇的试剂, 则用 2 倍柱体积的 0.1 M 乙酸洗涤柱子, 然后用上样缓冲液平衡柱子。

2.4.6 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。一般在 2-10°C 条件下, 用 3-10 倍柱体积的 0.1-0.5 M NaOH 清洗。。

## 三、产品保存

暂时不使用的层析介质, 需保存在 2-8°C 密闭的含 20% 乙醇的水溶液中; 短期 (<14 天) 不用的层析柱或介质, 可保存在 2-8°C 含 1 M NaCl 的水溶液中。

## 四、订购信息

产品名称	粒径 ( $\mu\text{m}$ )	订货号
Polar MC30-Boronate	30	270430800
Polar MC60-Boronate	60	270460800

包装规格为 0.5, 1, 5, 10, 100 L, 预装柱规格为 1.5 mL, 也可根据客户的需要提供其它规格的产品和预装柱。