

## Proteomix POR50-dT20 填料产品说明书

### 一、产品简介

赛分科技 Proteomix POR50-dT20 亲和填料以 50  $\mu\text{m}$  粒径的单分散 PS/DVB 聚合物球为基质，具有超大贯穿孔结构，良好的物理化学稳定性以及更好的耐压能力。Proteomix POR50-dT20 亲和填料表面经赛分科技特殊亲水涂层处理，具有更好的亲水性，最大程度地避免了与生物类样品的非特异性吸附。并通过专有的表面修饰技术，将 Oligo dT20 分子键合到亲水基质表面，得到专为分离信使 RNA (mRNA) 的亲和填料。

大多数 mRNA 分子含有一个聚腺苷酸尾巴 (PolyA 尾巴)，Proteomix POR50-dT20 亲和填料表面的 Oligo dT20 分子能与 mRNA 的 PolyA 尾巴之间形成碱基配对，专门用于从 IVT 转录产物中捕获 mRNA。

### 层析介质特点

- 📖 纯化工艺：工艺简单，节省开发时间
- 📖 载量、回收率：超大孔径对长链 mRNA 有更高载量，洗脱更容易，回收率更高
- 📖 去杂：能有效减少质粒 DNA 和其他转录混合成分
- 📖 高温稳定性：可用于高温 ( $\leq 65^{\circ}\text{C}$ ) 破坏不必要的高阶结构 (如有需要)
- 📖 卓越的扩展性能：能提供预装柱、半制备柱、制备柱和散装填料
- 📖 安全性：采用无动物源原料

### 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

Proteomix POR50-dT20 为亲和层析介质，配基为 Oligo dT20 分子。结构示意图如图 1 所示，具体产品技术参数见表 1。

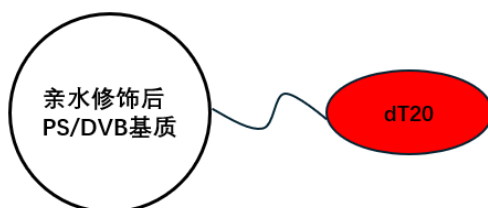


图 1.层析介质配基结构示意图

表 1. Proteomix POR50-dT20 层析介质技术参数

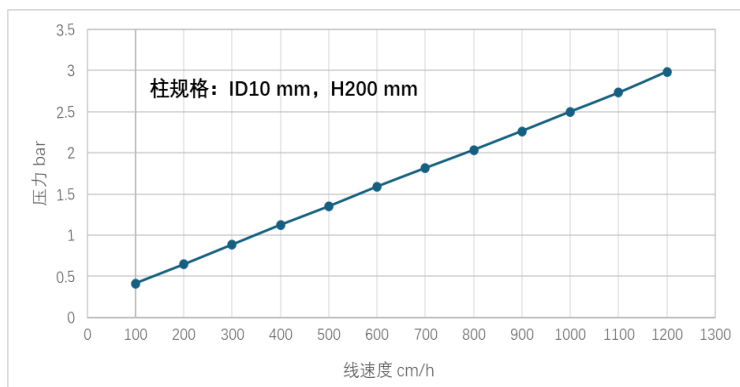
产品名称	Proteomix POR50-dT20
配基种类	mRNA 亲和
官能团	-dT20
粒径 ( $\mu\text{m}$ )	44.0 $\pm$ 6.0
流速/压力关系*	800 cm/hr (运行压力 2 bar)
动态载量* (/mL 填料)	$\geq 0.75$ mg Oligo A40

pH 稳定性 (操作)	2-12
pH 稳定性 (CIP)	2-13.7
温度稳定性	2-65°C, 避免冷冻
耐受压力	≤ 10.0 MPa (100 bar)
化学稳定性*	常用试剂: 水, 0.5 M NaOH、0.5% SDS、20 mM EDTA、5 mM dTT、2 M MgCl <sub>2</sub> 等其他常规试剂; 避免使用试剂: 强氧化剂(如次氯酸盐)、氧化酸(如硝酸)、强还原剂(如亚硫酸盐)、丙酮、四氢呋啉或苯甲醇中。
保存条件	具体见“八、产品储存”内容
运输条件	4-35°C, 保存于 20% 乙醇
典型应用方向	带 PolyA 尾端 mRNA 样品捕获纯化

\*注: 1.DBC 测试方法: 驻留时间 2 min, 上样液为含 0.0333 mg/mL Oligo A40 的 100 mM Tris+500 mM NaCl, pH7.5;  
2.流速测试方法: 柱高为 200 mm, 柱压为 2 bar 条件下;  
3.化学稳定性测试条件: 填料分别在表中常规试剂中 40°C 浸泡一周后测试, 结果: 载量是原载量的 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, 图 2 为该填料压力-流速变化曲线。



(Column: 10 × 200 mm; Mobile Phase: 0.1 M NaCl)

图 2. Proteomix POR50-dT20 压力-流速曲线图

### 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 (例如 AKTA Pure 150) 是否正常, 特别是压力检测模块和电导检测模块;

4.1.1.2 装柱液配制: 配制足量的装柱缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液、1.0 M NaCl 水溶液。

#### 4.1.2 置换保存溶剂

Proteomix POR50-dT20 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

例如：内径为 10 mm 的手动柱横截面积为  $0.7854 \text{ cm}^2$ ，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 压缩比计算。

#### 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: 1.05 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，排除上下筛板处气泡待用；

4.2.1.4 QC 检测设备：低压层析系统（例如 AKTA Process）；

4.2.1.5 缓冲溶液配制：配制足量的缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液；1.0 M NaCl 水溶液。

### 4.2.2 置换保存溶剂

Proteomix POR50-dT20 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

例如：内径为 200 mm 的手动柱横截面积为 314 cm<sup>2</sup>，装柱目标高度为 20 cm，则填料的需求量为  $V_{\text{slurry}}=314 \text{ cm}^2 \times 20 \text{ cm} \times 1.20/50\%=15.1 \text{ L}$

\*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 生产层析柱装柱（内径 ID 300 mm – 1200 mm 生产装柱）

#### 4.3.1 准备工作

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

4.3.1.2 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；

4.3.1.3 层析柱排气泡：层析柱清洗干净，排除上下筛板处气泡待用；

4.3.1.4 QC 检测设备：低压层析系统（例如 AKTA Process）；

4.3.1.5 缓冲溶液配制：配制足量的缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液；1.0 M NaCl 水溶液。

#### 4.3.2 置换保存溶剂

Proteomix POR50-dT20 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。根据以下方法计算所需填料倒入匀浆罐中，待沉降好后倒出上清，加入等体积水，混匀后继续沉降，置换 3 次。

#### 4.3.3 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

例如：内径为 600 mm 的手动柱横截面积为 2826 cm<sup>2</sup>，装柱目标高度为 20 cm，则填料的需求量为  $V_{\text{slurry}}=314 \text{ cm}^2 \times 20 \text{ cm} \times 1.20/50\%=135.6 \text{ L}$

#### 4.3.4 具体操作步骤

排除吸胶口管道内气泡；

以 300cm/h 线速度上抬柱头吸取所需填料；

吸胶结束后用水冲洗管道中的填料；

压胶：以 60cm/h 线速度下降柱头压胶，当柱头下降至距离胶面 2-3 cm 时读取胶面高度，按照 1.14 的压缩系数压紧柱床。

#### 4.4 柱效测试方法及评价参考标准

Proteomix POR50-dT20 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： $\geq 2000$ /m

#### 4.5 非理想柱效的解决办法

4.5.1 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

4.5.2 出现前沿峰时，解决方法与拖尾峰相反。

4.5.3 柱效低：重装层析柱，降低测试流速。

4.5.4 峰分裂：清洗更换滤片，检查测试样品。

4.5.5 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、纯化方法优化简介

Proteomix POR50-dT20 用于含 poly A 尾 mRNA 样品的捕获（纯化），方法开发时可参考表 3 中优化策略改善纯化效果，有助于更快进行工艺开发。

表 3. Proteomix POR50-dT20 纯化工艺建议优化策略

步骤	流动相	优化方向
平衡	10 mM Tris, 5 mM EDTA, 0.5-1.0 M NaCl, pH7.0	在避免样品聚集的情况下，根据载量和纯度的平衡调节盐浓度
上样		影响载量的因素： 1) 分子影响：分子大小及 PolyA 尾的长短； 2) 盐浓度：在样品稳定性允许的情况下，随着盐浓度升高载量增加； 3) 驻留时间：建议 5-6 min； 4) 上样液浓度：一般相同条件下浓度越大载量越高。
后平衡	10 mM Tris, 5 mM EDTA, 0.5-1.0 M NaCl, pH7.0	
淋洗	10 mM Tris, 5 mM EDTA, 0.25 -0.5 M NaCl, pH7.0	1) 可根据结合强弱调整盐浓度在不影响收率的情况下洗掉部分杂质； 2) 第一次筛选淋洗条件可从低到高步梯尝试。

洗脱	H <sub>2</sub> O	1) 根据实际情况调节洗脱体积; 2) 如果洗脱困难或峰拖尾也可用缓冲盐调节流动相的 pH 至偏碱性 7.5-8.0; 3) 洗脱峰分叉建议加入 5-10 mM Tris, 调节样品的带电量, 保证洗脱的均一性。
CIP	0.1 M NaOH	
清洗	H <sub>2</sub> O	
保存	20% 乙醇	乙醇反压高, 可适当降低流速

## 六、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等情况, 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, 所以建议随时观察层析柱压力情况, 保证在层析系统及填料耐压范围内清洗。具体在线清洗方法应视杂质的特性而定:

### 普通杂质及常规清洗:

用 5 倍柱体积的 0.1-0.2 M NaOH 清洗, 较强吸附的杂质可短时间用至 0.3 M-0.5 NaOH 清洗。

### 强疏水性结合的杂质:

可用 3-5 倍柱体积的 70% 乙醇或 30% 异丙酮清洗。

## 七、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 Proteomix POR50-dT20 在使用前及使用过程中, 可以采用 0.5 M NaOH 处理 0.5~1.0 h 以减少微生物污染风险。

## 八、产品储存

Proteomix POR50-dT20 运输溶剂为 20% 乙醇, 收到填料后请按以下条件进行保存, 保证填料性能:

未拆封填料: 2-8°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, 不建议长期保存在层析柱中;

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, 2-8°C 密闭保存。

## 九、销毁及回收

由于 Proteomix POR50-dT20 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。

## 十、产品订购信息

产品名称	类型	规格	订货号
Proteomix POR50-dT20	亲和填料	50 μm	2221509D0

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/>