Crysto Q 强阴离子层析介质

货号： Q15131

存储条件： 2~30℃ 20%乙醇中保存(4℃有利于长期保存)

产品简介：

离子交换层析（IEX）是目前在生物分子分离纯化中应用最为广泛的方法之一，依赖于正负电荷间的相互作用，利用不同生物分子在特定条件下带有电荷的性质和多少的差异来进行分离。

Crysto Q 离子交换介质以季铵基为功能基团偶联在超高刚性琼脂糖微球上，比 Q Chromrose 6FF 耐压性更强，载量更高。Crysto Q 为中等粒径设计，应用于样品的初步捕获和中度纯化。

应用领域：重组蛋白、抗体、核酸、病毒及类病毒颗粒、多糖等生物分子的分离纯化。

产品信息：

产品名称	**Crysto Q**
基质	超高刚性微球
平均粒径	90μm
带电基团	$-N'(CH_3)_3$
每毫升载量	＞100mg BSA
最高流速	1200cm/h
最大耐压	1 MPa
pH 稳定性	2~12(工作)　2~14(短期)
化学稳定性	常用水相缓冲液、1.0M 氢氧化钠、8M 尿素、 6M 盐酸胍、70%乙醇、30%异丙醇。
避免使用	氧化剂、阴离子型去污剂
存储	2~30℃ 20%乙醇

使用方法：

1. 填料装柱

Crysto Q 系列离子交换层析介质可以在实验室被填装到中压层析柱中，以扩大产量。将填料填装到层析柱中，根据样品中蛋白含量和填料载量选择合适的层析柱和柱高。

2. 填料准备

在装柱前，填料要平衡到室温，建议采用静置沉淀法，确定胶悬液浓度，我们原包装的填料以 50%的浓度储存在 20%的 乙醇中。压缩比在 1.10~1.12。

通过真空抽滤，将填料中 20%乙醇溶液更换为装柱所需的溶液(例如水),重复以上步骤 3 次，最后用装柱缓冲液重新悬浮填料，建议胶悬液浓度为 50%~60%。

所需悬浊液体积(mL)=装柱体积(mL) X 填料压缩因子/胶悬浊液浓度

3. 层析柱准备

中压层析柱和装柱器在使用前，应用装柱液润洗，检查层析柱完好无损伤，确保所选筛网(筛板)的孔径和所选填料的粒径相匹配，确保底端部件和顶部适配器的管件连接牢固。

4. 析柱装柱

1) 取清洗干净的中压层析柱，借助蛋白纯化仪或注射器，用装柱液通过下端接头排空管线及筛板中的空气， 也可用重力法排空筛板及管线中的空气，在柱子底部保留 1cm 高左右的液体，拧紧下堵头，调整柱子使其垂直于地面。

2) 再次混匀胶悬液，确保悬液均一，借助玻璃棒将胶悬液缓慢且一次性贴壁倒入柱管中，用装柱液冲洗柱管并加满。注意不要带入气泡。

注：当装柱体积大于柱体积的 50%以上时建议借助配套装柱器装柱。

3) 使其自然沉降，胶面上有 1~2cm 澄清液时，将适配器管线连接设备，低流速运行，排出适配器管线中的气泡，打开底部管线堵头，将适配器以 45°角放入玻璃管中，顺时针拧紧上端固定帽，调节适配器使其 O 型圈浸入澄清液中，之后顺时针拧紧上端调节帽。请确保整个操作在一条直线上完成，注意不要引入气泡。

4) 可以采用高流速或者恒压法压至胶面清晰稳定。读取刻度并记录，关闭流速。

5) 如用装柱器装柱，拆除装柱器，用快速锁将调节杆缓慢下移至胶面位置，将上端调节帽顺时针拧紧，继续运行上述流速，如果胶面发生改变，可以重新调节适配器高度。

6) 稍微拧松上端调节帽，按压缩比确定最终柱床高度，拧紧上端调节帽，采用先下后上的方式拧紧上下端堵头，装柱完毕。

5. 样品纯化

5.1 缓冲液准备

具体的缓冲体系应根据目标蛋白的稳定性和等电点、离子交换介质的种类进行筛选和优化。

建议使用缓冲液：

平衡缓冲液：50 mM　Tris-Hcl,pH8.0

洗脱缓冲液：50 mM　Tris-Hcl+1M NaCl, pH8.0

5.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.45μm 滤膜过滤，减少杂质，提高纯化效率和防止堵塞柱子。

5.3 样品纯化

1) 平衡：用 0.5~1 CV 洗脱缓冲液进行预平衡，再用 5~10CV 的平衡缓冲液平衡层析柱，至流出液电导和 pH 不变(与平衡液一致);

2) 进样：样品缓冲液应尽可能与平衡液一致。

3) 淋洗：继续用平衡缓冲液淋洗至基线；

4) 洗脱：可以根据实际情况采取提高盐浓度或改变流动相 pH 的方法依次洗脱吸附于层析介质上的样品。

5) 再生：每次层析之后可用 0.5M~2M NaCl 清洗层析柱，除去强结合的蛋白；

6) 如需二次上样，可用平衡缓冲液清洗 3~5CV, 待 pH 和电导率与平衡缓冲液基本一致即可使用。

6. 在位清洗

介质使用数次(具体次数与原料的种类和来源及实验要求有关)后，需要对介质进行在位清洗；

1) 对于通过离子键强结合的蛋白，可用 3CV 2MNaCl 清洗，并用 3CV 以上的去离子水清洗；

2) 对沉淀蛋白、疏水性结合的蛋白，可用 0.2M~0.5M NaOH 清洗(与层析介质接触时间 1~2 小时),并用 5CV 以上平衡液和 3CV 以上的去离子水清洗；

3) 对强疏水性结合的蛋白、脂蛋白和脂类物质，可用 5CV 以上的 50%乙醇或 30%异丙醇清洗，并用 5CV-10CV 以上的去离子水清洗。