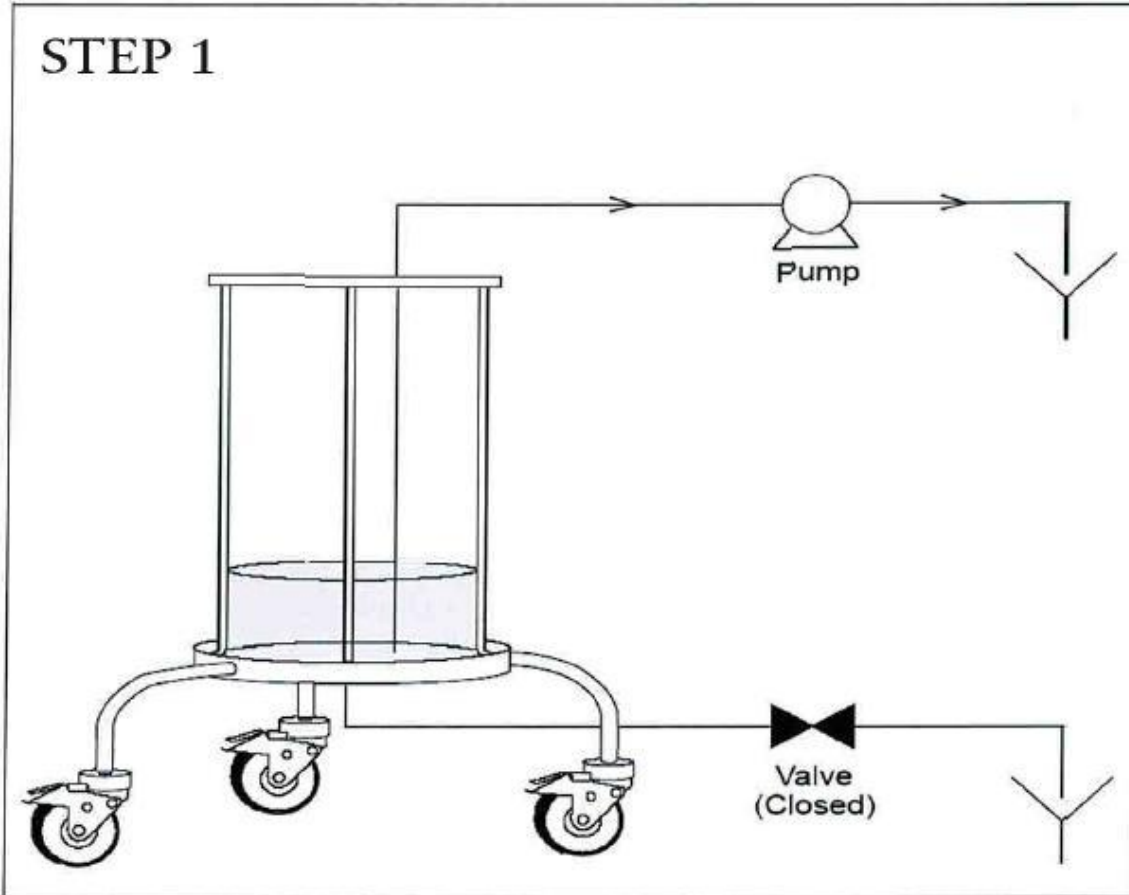


# BPG Column Packing Method

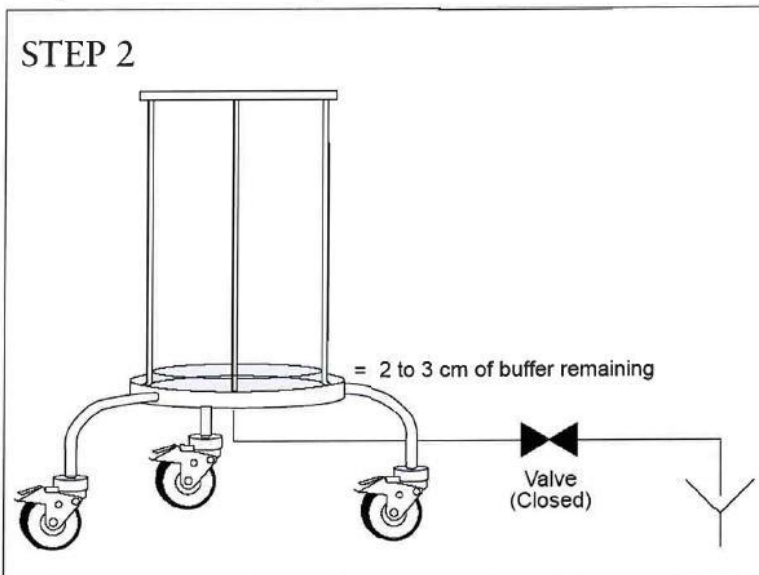
## 1. Bottom net Priming.

- Trapped 된 Bubble 을 제거하기 위해 20% ethanol 로 column net 을 적신다.
- Packing buffer 로 10~15cm column 을 채운다.
- drain 쪽으로 bubble 을 제거한다.
- Suction pump 을 연결하여, bottom net 쪽에 있는 Bubble 을 제거한다.



**Figure 1. Bottom net priming step 1.**

- Continue to pump buffer until there is only 2-3 cm of buffer remaining in the column.
- Buffer 가 2~3cm 남을 때 까지 계속한 후, Column 의 standing horizontal(level)을 맞춘다.



**Figure 2. Bottom net priming step 2.**

## 2. Slurry 준비

- Packing 할 적당한 buffer 에 homogeneously slurry 를 만든다. Slurry 에 농도는 column tube length 에 50~75%로 맞춘다.
- Compression factor 를 고려하여 만든 homogeneously Slurry 를 slurry 안에 bubble 이 trapped 되지 않도록 조심해서 붓는다.

**BPG Column media 의 Compression factor 는 다음과 같다.**

Media	Amount of media per liter of packed column	Amount of media per centimeter of packed bed				
		BPG 100	BPG 140	BPG 200	BPG 300	BPG 450
DEAE Sepharose Fast Flow	1.25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1.97 l
Sepharose Fast Flow	1.25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1.97 l
CM Sepharose Fast Flow	1.25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1.97 l
S Sepharose Fast Flow	1.25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1.97 l
Phenyl Sepharose Fast Flow	1.25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1.97 l
Sephadex G-25 C and M grades	250 g	19.6 g	38.2 g	78.5 g	176 g	394 g
Sephadex G-25 SF	280 g	22.0 g	42.9 g	88.0 g	198 g	443 g
Sepharose 4 and 6 Fast Flow	1.20 l	94 ml	183 ml	377 ml	847 ml	1.89 l
Sephacryl High Resolution	1.25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1.97 l
Superdex 75 and 200 prep grade	1.20 l	94 ml	183 ml	377 ml	847 ml	1.89 l
Q and SP Sepharose High Performance	1.20 l	94 ml	183 ml	377 ml	847 ml	1.89 l
Phenyl Sepharose High Performance	1.20 l	94 ml	183 ml	377 ml	847 ml	1.89 l

**Table 1. Media quantity requirements for BPG Columns.**

## 3. Column Packing

- Adaptor 를 삽입 한 후, height adjuster handle 을 사용하여 buffer 표면 밑 1~5mm 에 adaptor 를 위치 시킨다.
- Adaptor o-ring 을 sealing(약간) 한 후, adaptor 를 낮추어 adaptor tube 에 buffer 를 채워 더 이상 bubble 이 없는 것을 확인 하다.

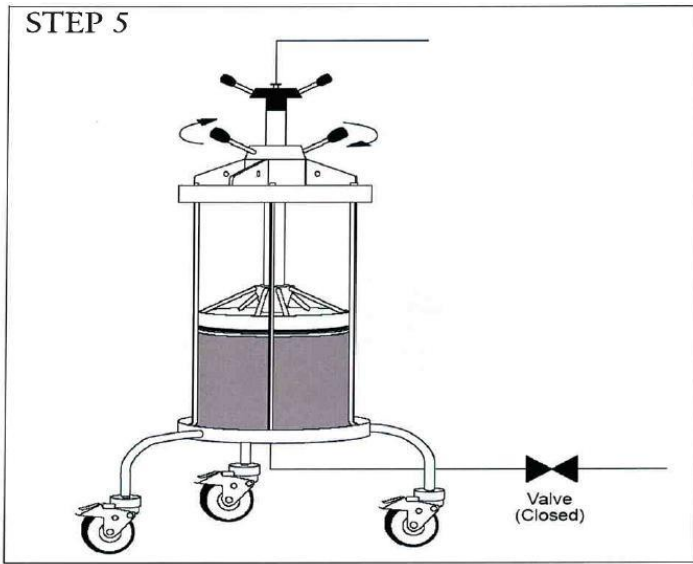


Figure 5. Column packing step 1.

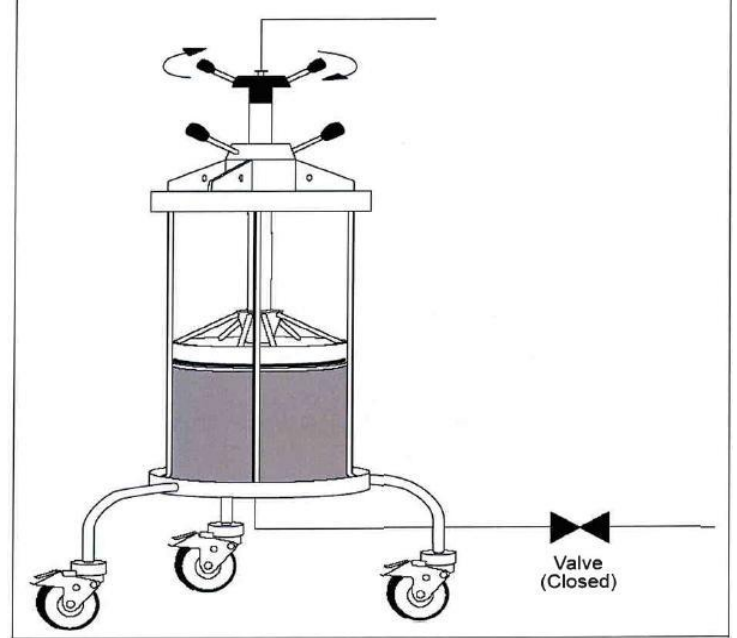


Figure 6. Column packing. sealing adaptor o-ring.

- c. packing pump 를 실행 한 후, 낮은 flow rate 로 tubing 을 연결하고 bubble 을 제거 하며, bottom valve 를 open 한다.
- d. 최고의 performance 를 위해 미리 계산된 flow rate/pressure 로 packing 한다.
- e. Bed 가 안정화 되었을 때 Bed 의 위치를 표시하고, Pump 를 멈추며 동시에 bottom valve 를 잠근다. Adaptor o-ring seal 을 풀어서 height handler 를 오른쪽으로 재빨리 돌려 adaptor 를 낮춘다. 그 동안, Bed 가 올라올 것이며 adaptor 가 Bed 위 0.5~1cm 되었을 때 adaptor 를 멈추고 adaptor 를 o-ring 을 sealing 한다.