



# 此说明仅限参考

# 琼脂糖凝胶型阳离子交换填料

# 1 理化指标

凝胶型号	SP-琼脂糖凝胶 FF	SP-琼脂糖凝胶 HP	CM-琼脂糖凝胶 FF	CM-琼脂糖凝胶 CL-6B		
类型	强阳离子	强阳离子	弱阳离子	弱阴离子		
配基量	0.16-0.25mmol/ml	0.12-0.20mmol/ml	0.07-0.13mmol/ml	0.06-0.14mmol/ml		
颗粒大小	45~165μm	~45µm	45~165μm	45~165μm		
最大流速*	200 cm/h	100 cm/h	200 cm/h	150 cm/h		
工作pH值	4~13	4~13	6~10	6-12		
稳定性	0.1M 的酸碱以及常规缓冲液					

\*检测条件: 层析柱 10mm×10cm \*柱床高 5cm, 25℃, 流动相为水。

#### 2 贮存

产品应密封贮存在  $4^{\circ}\sim30^{\circ}$  (保存溶液为 20%乙醇),通风、干燥、清洁的地方。不能冷冻。用过的柱子贮存在  $4-8^{\circ}$  (20% 乙醇)。

#### 3 应用

本产品具有高化学稳定性、高流速、高载量、好的机械性能、可在位清洗、多次重复使用等特点,非特异性吸附低,回收率高,适用于工业规模生产,适用于在 pH 工作范围内可形成正离子的生物大分子的分离纯化,广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的离子交换制备。

#### 4 使用过程

#### 4.1 装柱

- (1) 让所有的材料和试剂均平衡至层析实验的温度。配制缓冲液,对所有的缓冲液进行脱气处理(填料不可以超声)。
  - (2) 检查层析柱所有部件,特别是过滤网,密封圈,螺旋塞是否紧密,玻璃管是否干净和完整。
  - (3) 根据需要量取相应量的凝胶,用去离子水清洗掉 20%乙醇。
  - (4) 将柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位, 务必使底端无气泡。
- (5) 用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内,注意勿使产生气泡。打开柱子出液口,使凝胶 在柱内自由沉降,连结好柱子顶端柱头。

#### 4.2 平衡

让平衡缓冲液以一定流速流过柱子,直到流出液电导和pH不变。平衡液是低浓度的缓冲溶液,如NaAC、

网址: http://henghuibio.com





PBS 等。

#### 4.3 上样

- (1) 样品用平衡液配制,样品一定要离心或过滤后上样。盐浓度太大的样品需要处理后再配。
- (2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上,用平衡液洗去杂质,再选择一种洗脱液洗下目标产品。
- (3) 介质对样品组分吸附的程度取决于样品的带电性质、流动相的离子强度和 pH 值。盐浓度小,介质对样品组分吸附较牢。用 CM 介质时,推荐的操作 pH 值应在缓冲液 pKa 的 0.5 个单位内,并且和目标分子的等电点(pI)相差至少一个 pH 单位。

对于目标分子的吸附,选择具有适当 pH 的缓冲液是至关重要的,请参考下表;

Buffers for cation exchange chromatography

pH interval	Substance	Conc.(mM)	Counter-ion	pK <sub>α</sub> (25°C) <sup>1</sup>
1.4-2.4	Maleic acid	20	Na+	1.92
2.6-3.6	Methyl malonic acid	20	Na+or Li+	3.07
2.6-3.6	Citric acid	20	Na+	3.13
3.3-4.3	Lactic acid	50	Na+	3.86
3.3-4.3	Formic acid	50	Na+or Li+	3.75
3.7-4.7	Succinic acid	50	Na+	4.21
5.1-6.1	Succinic acid	50	Na+	5.64
4.3-5.3	Acetic acid	50	Na+or Li+	4.75
5.2-6.2	Methyl malonic acid	50	Na+or Li+	5.76
5.6-6.6	MES	50	Na+or Li+	6.27
6.7-7.7	Phosphate	50	Na+	7.20
7.0-8.0	HEPES	50	Na+or Li+	7.56
7.8-8.8	BICINE	50	Na+	8.33

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Handbook of chemistry and physics,83<sup>rd</sup> edition,CRC,2002-2003.

# 4.4 洗脱

CM 介质可用增大盐浓度或增大 pH 值进行洗脱,常用增大盐浓度的办法洗脱。

#### 4.5 再生

根据样品的性质,通常通过用高离子强度洗脱缓冲液,如 2M NaCl 对柱子进行洗涤,或改变缓冲液 pH, 然后在平衡缓冲液中重新平衡来进行再生。如果填料吸附性能发生改变,诸如变性蛋白质或脂质的物质在再生过程中洗脱不下来,则需要通过在位清洗程序 CIP 来清除。

#### 4.6 在位清洗 (CIP)

通过用 2-3 倍柱床体积的 0.1M NaOH 溶液清洗填料,随后立即用大量纯水彻底清洗直至中性,从而除去沉淀的蛋白质、疏水结合的蛋白质和脂蛋白。

联系电话: 400-636-8770 010-64126590

网址: http://henghuibio.com





# 5 保存

使用完的填料,用纯水彻底冲洗,最后保存在4-8℃(保存溶液为20%乙醇),不能冷冻。

#### 6 注意事项

- (1) 上样之前,样品必须经过膜过滤及去除色素,否则杂质及色素会被吸附到填料上,影响填料的正常使用。所有的缓冲液均需要用 0.45um 的过滤器过滤。
  - (2) 在使用过程中,避免使用高浓度的强酸强碱,酸和碱的浓度应低于0.1M。碱会使流速变慢。
  - (3) 不同的样品,吸附和洗脱方法不相同,可以根据相关的文献进行。
  - (4) 离子交换介质在选择层析柱时,避免使用细长柱,会增加实验操作压力。



联系电话: 400-636-8770 010-64126590

网址: http://henghuibio.com