



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	45~165 μ m	~45 μ m	45~165 μ m	45~165 μ m
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 16mm \times 10cm *柱床高 5cm, 25 $^{\circ}$ C, 流动相为水。

2 贮存

产品应密封贮存在 4 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C (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 $^{\circ}$ C (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、



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 _a (25°C) ¹
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

¹Handbook of chemistry and physics, 83rd 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。



5 保存

使用完的填料，用纯水彻底冲洗，最后保存在 4℃（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。

瑞达恒辉