



NM90Agarose™ 系列离子交换层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0604

版本号：A1

NM90Agarose™ 系列

离子交换层析介质

使用说明

产品简介

离子交换是根据生物分子表面电荷（种类、数目和分布）的差异实现对不同生物分子的分离，是生物大分子分离纯化最常用的方法。纳微科技的 NM90Agarose™ 离子系列采用高交联琼脂糖微球，微球键合了多种功能的离子基团，具有不同于传统离子交换层析介质的选择性。

表 1. NM90Agarose™ 系列离子交换层析介质属性一览表

产品	NM90Agarose™ HCM	NM90Agarose™ HAM
骨架	高交联琼脂糖微球	高交联琼脂糖微球
基团	-CH ₂ COO ⁻ 、苯基	-CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃
粒径	~90 μm	~90 μm
离子密度	~0.12 meq/mL	~0.10 meq/mL
耐压范围	3 bar	3 bar
pH 范围（操作）	2-12	2-12
pH 范围（CIP）	2-14	2-14
保存温度	4 -25 °C	4 -25 °C
化学稳定性 (40 °C)	1 M 氢氧化钠, 70%乙醇, 30%异丙醇, 30%乙腈, 1% SDS, 6 M 盐 酸胍, 8 M 尿素。	1 M 氢氧化钠, 70%乙醇, 30%异丙醇, 30%乙腈, 1% SDS, 6 M 盐 酸胍, 8 M 尿素。

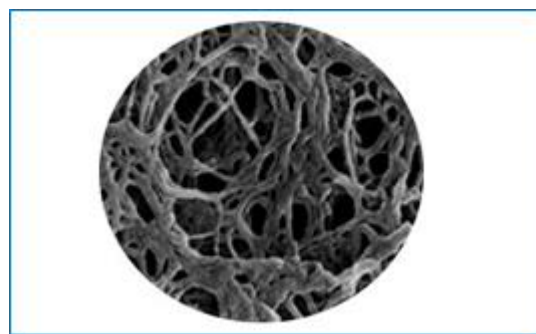


图 1. NM90Agarose™ 系列离子交换层析介质

纯化操作步骤

层析柱装填

匀浆液的浓度是指层析介质沉降至恒定体积时的体积与匀浆液的总体积的比值。为了获取最佳的离子交换层析介质的装柱效果，我们推荐纯水匀浆，匀浆液浓度为 50~70%。具体装柱方法如下：

1) 首先计算所装色谱柱的柱体积 V_c^* , $V_c = h \times \pi r^2$

* V_c : 色谱柱柱体积; h : 色谱柱高度; r : 色谱柱半径。

2) 在原容器中轻轻搅动离子交换层析介质，使其完全分散在液体中形成匀浆液。量取所需原液体积*；

*一般情况下，层析介质在压力作用下都会被压紧导致体积收缩，为了获得紧密的柱床，推荐量取填料的体积过量一些，一般为柱体积的 1.1-1.2 倍左右。

3) 将所需离子交换层析介质转移至适当容器，自然沉降后，倾斜倒去上清液。

4) 装柱前，并用 3 倍柱体积纯水置换溶剂或在柱内置换溶剂*。

*纳微科技的离子交换层析介质保存在 20%乙醇溶液。

5) 调整匀浆液浓度 50-70%（体积比）。

6) 在建议的压力范围内使用泵装柱，推荐先低流速恒流装柱再高流速恒压装柱。然后记录下胶面位置，停泵后将活塞移动到该位置，再向下压 5 mm。

柱效评价

色谱柱装填好后，用去离子水或 0.5 M NaCl 以 50~200 cm/h 流速平衡并进行柱效测试。具体测试参数详见下表：

表 2. NM90Agarose™ 层析色谱柱的柱效测试

样品	1% (v/v) 丙酮的水溶液/2 M NaCl
上样量	1%~5% 柱体积
流动相	去离子水/0.5 M NaCl
线性流速	50~200 cm/h
检测	5% 丙酮上样：UV @ 280 nm 2 M NaCl 上样：电导检测仪 11

清洗

装好的色谱柱应使用至少使用 5 BV 的去离子水清洗。

平衡

用 5 BV 以上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），缓冲液如 Buffer A，如 20 mM PBS, pH=7.0，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。

上样

固体样品可用平衡液溶解配制；低浓度样品溶液可用平衡液透析；高浓度样品溶液可用平衡液稀释。为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或膜过滤处理。进料量根据介质的载量和料液中目标蛋白的含量计算，上样前确保样品缓冲液应尽可能与平衡液一致。

洗脱

上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线稳定，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。

再生

每次层析之后可用 0.5-2 M NaCl 清洗层析柱，除去强结合于层析介质上的蛋白。

在位清洗

为了保持层析柱的性能，若有蛋白质或其他杂质在再生过程中未能有效去除，可执行在位清洗步骤，在位清洗时，也可采用反向冲洗的方法，具体操作步骤如下：

(1) 对于通过离子键结合过强的蛋白，可用 3 BV 以上的 2 M NaCl 清洗，并用 3 BV 以上的去离子水清洗；

(2) 对沉淀蛋白、以疏水性结合的蛋白或脂蛋白，可用 0.2~0.5 M NaOH 清洗（与层析介质接触时间 1~2 小时），并用 5 BV 以上平衡液和 3 BV 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 5 BV 以上的 50% 乙醇或 30% 异丙醇清洗（与层析介质接触时间 0.5-1 小时），并用 5 BV 以上的去离子水清洗。也可用含非离子表面活性剂的碱性或酸性溶液清洗，如用 0.1~0.5% 的 Triton X-100 + 0.1 M 乙酸清洗 1-2 小时，并用 5 BV 以上的 50% 乙醇冲洗去除污剂，然后用 5 BV 以上的纯水冲洗（使用高浓度的有机溶剂时，为了避免产生气泡，应采用逐步增加有机溶剂浓度的方法）。

储存

未使用过的层析介质的保存：暂时不使用的层析介质需在 4~25 °C 的条件下，密封保存在 20 %乙醇中。

已经使用过的层析介质保存：已经使用过的层析介质应在再生和清洗干净后密封保存在 20 %乙醇中。

故障排除

如果您在使用离子交换层析产品遇到任何问题，请参考下表进行解决或联系我们。

1、柱压升高

原因分析	建议措施
流速过高	降低流速
泵和收集器之间的阀门未打开	打开出口
仪器的滤膜堵塞	去除杂质并清洗，或者替换，在使用前对样品和洗脱液用 0.45 μm 或 0.2 μm 进行过滤
柱前堵塞	使用 20 BV 流动相反冲色谱柱
样品在柱子上发生沉淀	遵循清洗步骤，调节洗脱液来维持样品溶剂度
样品较脏，或一些吸附作用较强的物质留在填料上	执行在位清洗操作（参考再生条件）
柱床被压缩	重新填装柱子
色谱柱使用时间较长	更换色谱柱或更换填料

2、样品吸附不够充分

原因分析	建议措施
样品溶液中离子强度太高	降低样品溶液中的离子强度，如可采用稀释或脱盐等手段
样品的 pH 不合适	调节 pH 增加结合强度

3、样品在洗脱过程中不被洗脱

原因分析	建议措施
洗脱液的离子强度过低	增加洗脱液的浓度
洗脱液的洗脱能力过低	更换洗脱能力更强的洗脱液
洗脱液的 pH 不合适	调整洗脱液的 pH
色谱柱有残留疏水性较强的杂质	执行在位清洗操作（参考再生条件）

4、分辨率降低

原因分析	建议措施
不合适的洗脱条件，如梯度过陡或流速过高	改变洗脱条件，采用较缓的梯度洗脱或等度洗脱，降低流速
柱子未装填好	重新装柱
在柱子顶端或柱后有大部分的混合空间	加高填料的上表面或减少柱子后体积
柱子过载	清洗并重新平衡色谱柱，降低上样量
粒径较大	更换同种类型粒径更小的填料
选择性差	更换其他类型填料

5、进样若干次后对样品的吸附能力降低

原因分析	建议措施
样品中的杂质结合在介质上，干扰了正常的结合	执行在位清洗操作（参考再生条件）

6、基线漂移

原因分析	建议措施
色谱柱未平衡好	增加平衡时间
洗脱液 A, B 在同一紫外波长下吸收系数不同	使用不同的波长或走没有样品的空白梯度
洗脱液不纯	使用高纯度的色谱纯级试剂

7、出现不明杂峰

原因分析	建议措施
前一个样品的不完全洗脱	再生
洗脱液不纯	运行空白梯度对照或使用高纯度的色谱纯级试剂
痕量离子性杂质结合在色谱柱上, 在平衡和上样过程中被浓缩, 洗脱时出峰	清洗色谱柱 (参考“再生条件”) 或采用适当的方法将结合在色谱柱上的杂质洗脱下来
不稳定的非重现性的不明杂峰	与仪器的稳定性有关

订货信息

产品名称	包装规格	存货编码
NM90Agarose™ HCM	30 mL	04091-090001-2030
	100 mL	04091-090001-2100
	500 mL	04091-090001-2500
	1 L	04091-090001-1001
	5 L	04091-090001-1005
	10 L	04091-090001-1010
	50 L	04091-090001-1050
NM90Agarose™ HAM	100 L	04091-090001-1100
	30 mL	04092-090001-2030
	100 mL	04092-090001-2100
	500 mL	04092-090001-2500
	1 L	04092-090001-1001
	5 L	04092-090001-1005
	10 L	04092-090001-1010
50 L	04092-090001-1050	
100 L	04092-090001-1100	



苏州纳微科技股份有限公司

全国咨询热线: 400-828-1622

中文网站: www.nanomicrotech.com

英文网站: www.nanomicro-technology.com

邮箱: info@nanomicrotech.com

总部地址: 苏州工业园区百川街 2 号 215123

2021 年版