



# NMGel 系列离子交换层析介质

## 产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0110

版本号：A0

# NMGel 系列层析介质

## 使用说明

## 产品简介

离子交换层析 (Ion Exchange Chromatography) 是根据生物分子表面电荷 (种类、数目和分布) 差异实现对不同生物分子的分离的方法, 纳微科技提供 NMGel 系列聚合物微球的离子交换层析介质, 经过亲水表面改性后再键合离子交换基团, 根据应用需求的不同提供多系列产品, 可以满足捕获、中度纯化的应用, 具有卓越的生物分子相容性和柱床稳定性, 为客户提供生物样品从实验室纯化到工业化生产的整体解决方案。

表 1. 离子交换功能团分类及用途

类型	化学结构、缩写	主要特点	PKa 值
弱阳离子交换	-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup> (CM)	大粒径、高流速	3-5
强阳离子交换	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (SP)		<2
弱阴离子交换	-CH <sub>2</sub> NH <sup>+</sup> (CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (DEAE)		>9
强阴离子交换	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> (Q)		>12

注:

1. 流动相 pH 介于 pI 和 pKa 之间;
2. 流动相 pH 与待分离样品等电点差 1.0 pH;
3. pH < 3.0 宜选用强阳交换介质, pH > 10.0 宜选用强阴交换介质。



图 1. NMGel 系列离子交换层析介质实物图

## NMGel 系列离子交换层析介质的优势

- 1) 填料装柱压缩系数和溶胀系数小 (远低于琼脂糖和葡聚糖凝胶), 柱床稳定性高;
- 2) 较大粒径及高强度的基质可以使用更快的流速和更高的柱床, 提高纯化效率;
- 3) 优越的耐碱性, 可以有效延长使用寿命, 提高生产效率, 降低成产成本, 提升企业效益。

表 2. NMGel 系列离子交换层析介质参数总览

产品名称	NMGel-200SP	NMGel-200Q	NMGel-200CM	NMGel-200DEAE
基质	聚丙烯酸酯 (PMMA)			
粒径	~200 μm			
孔径	~1000 Å			
离子交换类型	强阳	强阴	弱阳	弱阴
离子交换量 (meq/mL)	~ 0.16	~ 0.17	~ 0.15	~ 0.11
动态结合载量 (mg/ml)	≥60	≥10	≥35	≥45
线性流速 (cm/h)	50-200			
最大耐压 (MPa)	0.4			
工作温度	室温			
典型应用	适合抗体、大分子蛋白质、多肽等生物大分子的捕获和中度纯化			

注：1、动态吸附载量：阳离子用溶菌酶 (Lysozyme)，阴离子用牛血清白蛋白 (BSA) /

2、pH 值稳定范围是指使用、再生和在位清洗的 pH 区间

得益于采用了单分散高机械强度的层析介质，NMGel 系列高载量离子交换预装柱允许进行更高流速的操作，动态载量更高、更耐碱清洗、不易破碎、不易沉积色素，洗脱更集中，方便客户快速筛选填料和工艺，满足客户对抗体、蛋白质等生物大分子的高载量捕获和大规模纯化等方面的需求，在下游分离纯化中有着广泛的应用。

## 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于恒定体积时的体积与匀浆液的总体积的比值。为了得到最佳的离子交换层析介质的装柱效果，我们推荐匀浆液浓度为 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。量取所需原液的体积\*。

\*一般情况下，离子交换亲和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，推荐填料的体积过量一些，一般为柱体积的 1.1 倍左右。

3) 添加 20% 的乙醇，调整匀浆浓度为 50%-70%。

4) 将匀浆液一次性倒入层析柱，按压缩系数 1.05-1.1 进行装柱。推荐先低流速恒流装柱，后大流速恒压装柱。

### 柱效评价

色谱柱装填好后，用流动相以 50~200 cm/h 流

速平衡并进行柱效测试。具体测试参数详见表 3：

表 3. 离子交换层析色谱柱的柱效测试

样品	5% (v/v) 丙酮的水溶液 / 2 M NaCl
上样量	0.5%~2% 柱体积
洗脱液	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

### 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 2.0 M NaCl 清洗，并用 3 BV 以上的去离子水清洗；

(2) 对沉淀蛋白或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，如用含 0.1~0.5% 的 Triton X-100 和 0.1 M 乙酸清洗 1~2 小时，并用 5 BV 以上的 50% 乙醇冲洗去除去污剂，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）

## 平衡

用 5 BV 以上的平衡缓冲液平衡层析柱，至流出液电导率和 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浓缩；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，上样前确保载样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降低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。

## 储存

未使用的层析介质需密封保存在 4~25 °C 的 20 % 乙醇溶液中；已经使用过的层析介质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 NMGel 系列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
仪器的在线过滤器堵塞	去除杂质并清洗，或者替换，在使用前对样品和缓冲液用 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	在位清洗，调节样品溶剂度
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	更换色谱柱或更换色谱填料

### 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

## NMGel 系列离子交换层析介质产品说明书

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、使用中柱床出现裂痕

原因分析	建议措施
溶胀未充分消除	用 0.5 M NaCl 混合均匀,充分平衡
溶液中有气泡	减压过滤除气
外部空气进入系统	加入更多缓冲液,将气体充分赶出

### 7、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空白梯度

### 8、出现不明杂峰

原因分析	建议措施
前一个样品不完全洗脱	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

## 订货信息

产品名称	包装	存货编码
NMGel-200CM	30 mL	04081-200100-2030
	100 mL	04081-200100-2100
	500 mL	04081-200100-2500
	1 L	04081-200100-1001
	5 L	04081-200100-1005
	10 L	04081-200100-1010
	50 L	04081-200100-1050
NMGel-200SP	100 L	04081-200100-1100
	30 mL	04082-200100-2030
	100 mL	04082-200100-2100
	500 mL	04082-200100-2500
	1 L	04082-200100-1001
	5 L	04082-200100-1005

	10 L	04082-200100-1010
	50 L	04082-200100-1050
	100 L	04082-200100-1100
NMGel-200DEAE	30 mL	04083-200100-2030
	100 mL	04083-200100-2100
	500 mL	04083-200100-2500
	1 L	04083-200100-1001
	5 L	04083-200100-1005
	10 L	04083-200100-1010
	50 L	04083-200100-1050
	100 L	04083-200100-1100
NMGel-200Q	30 mL	04084-200100-2030
	100 mL	04084-200100-2100
	500 mL	04084-200100-2500
	1 L	04084-200100-1001
	5 L	04084-200100-1005
	10 L	04084-200100-1010
	50 L	04084-200100-1050
	100 L	04084-200100-1100

注：纳微科技还可提供 7.7 mm × 22 mm、16 mm × 25 mm、7.7 mm × 100 mm 的预装柱，更多规格或型号定制，请联系我们。

#### 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



2022 年版