
NW Rose Plus Q

离子交换层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-A-DF-0310

版本号：A0



NW Rose Plus Q

离子交换层析介质

离子交换层析 (Ion Exchange Chromatography, IEC) 是现代生物技术中使用最广泛的一类纯化方法, 从二十世纪六十年代起应用到生物分子的分离领域, 一直在分离纯化生物分子方面起着重要作用。现在离子交换层析技术作为最广泛应用的方法之一, 应用于蛋白质, 多肽, 核酸以及其它带电荷生物分子的分离纯化中, 以高载量提供了高分辨率分离。随着生物技术药物的发展, 对于高载量的离子交换的需求大大增加。

NW Rose Plus Q 强阴离子交换层析介质采用高刚性, 高流速琼脂糖微球为基质, 具有开放的大孔结构, 呈现更好的压力流速曲线, 基质表面偶联强阴离子配基, 适用于纯化高分子量的蛋白质, 例如 IgG, IgM, IgA 等。

NW Rose Plus Q 强阴离子交换层析介质具有如下特点:

- 高流速下具有高动态载量, 提升生产效率
- 高体积通量, 减少纯化工艺时长
- 操作简单, 成本效益更好
- 简单的在位清洗和消毒流程

层析介质使用前处理

1. 建议使用的层析柱类型:

按照应用领域选择层析柱: 大生物分子分离纯化: 一般选用柱高 10-20cm 的层析柱。

2. NW Rose Plus Q 离子交换介质处理

根据层析柱的体积计算需要的 NW Rose Plus Q 层析介质质量

层析柱体积=层析柱底面积×柱高

表 1. NW Rose Plus Q 技术参数。

产品型号	NW Rose Plus Q
分离原理	强阴离子交换
基质	高流速, 高刚性琼脂糖微球
粒径	~90 μm
配基	季胺根
动态结合载量	>120 mg·mL ⁻¹ (溶菌酶)
离子载量	110-140 μmol·mL ⁻¹ (Cl ⁻)
最大耐压	0.3 MPa
CIP 在位清洗	0.5 M NaOH
推荐流速	300-500cm/h
最大流速	700 cm/h (0.1MPa, XK26/30 层析柱, 柱高 15 cm, 25°C)
pH 稳定性	2-12 (工作), 2-14 (CIP)
化学稳定性	常见水相溶液, 1 M NaOH、6 M 盐酸胍、30% 异丙醇、70%乙醇
使用温度	4-40°C
存储条件	20% 乙醇, 4-30 °C

层析介质用量 (ml 或 L) = (柱体积×1.15)

层析介质匀浆用量 (ml 或 L) =层析介质用量/层析介质匀浆浓度

注意:

- 使用的缓冲液或水需要脱气处理(如果是注射用水, 可以不用脱气)。
- 一般原包装的匀浆浓度为 75%左右。如果不确定匀浆浓度, 可以将层析介质匀浆倒入量筒中, 过夜后 (一般 12-20 小时), 计算层析介质自然沉降体积。
- 原包装 NW Rose Plus Q 是在 20%乙醇中保存, 使用砂芯漏斗 (G2 或 G3 型号), 负压抽滤的方式, 更换装柱缓冲液 (装柱缓冲液一般

使用含有 0.15-0.5M NaCl 的缓冲液, 水或平衡缓冲液), 更换 3 次。
搅拌时不要用力过度。

- 如果需要高压灭菌, 可以在 121°C, 20min 高压灭菌。
- 在凝胶溶胀过程中不要使用磁力搅拌子搅拌, 使用磁力搅拌子会导致介质颗粒破裂。

2.2 将准备好的层析介质配置成 50%~75% 匀浆, 搅匀备用。

注意: 装柱过程中, 凝胶温度过高可能会使层析柱损坏。

装柱

请参考层析柱使用手册 (不同公司生产的层析柱, 使用方法不同, 操作不当可能会损坏层析柱和层析介质。装柱缓冲液一般使用水或平衡缓冲液。

- 调整层析柱处于竖直状态。
- 层析柱底膜排气, 层析柱底部保留 1cm 装柱缓冲液。
- 加装装柱器, 一般装柱高度超过层析柱的 2/3 时, 需要加装装柱器。
- 将搅匀后的胶悬液一次性缓慢倒入层析柱内, 注意不要带入气泡, 倒入后用搅胶棒搅拌均匀。
- 层析柱柱头连接, 注意柱头与系统或蠕动泵之间加压力表 (工业规模层析柱需要), 将层析柱头膜排气。
- 将层析柱头插入层析柱, 使层析柱头底膜接触到液面, 除去液面与层析柱头膜间的气泡。
- 连接系统或蠕动泵, 调整流速, 控制压力, 不要超过 3bar。
- 随着流速, 层析介质界面逐渐下降。待层析介质界面稳定后 (30min 内层析界面不再下降), 标记界面位置。
- 停泵, 卸下装柱器 (如果需要)。将柱头下降至层析介质界面 (标记位置再下 0.5cm)。
- 按照停泵前流速继续压胶 20-30min。如果层析介质界面稳定, 装柱完成。

柱效评价

1. 柱效测定

可以采用丙酮或者 NaCl 作为指示剂, 按照下表配制指示剂溶液和流动相:

样品	1.0% (v/v) 丙酮水溶液	2M NaCl (溶于水)
样品体积	1.0%柱体积	1.0%柱体积
流动相	水	0.4M NaCl 水溶液
流速	30 cm/h	30cm/h
检测器	UV 280 nm	电导率

2. 计算柱效:

根据 UV 或者电导率曲线计算理论塔板高度 (HETP)、理论塔板数 (N) 和非对称因子 (As), 公式如下:

$$HETP=L/N$$

$$N=5.54(VR/Wh)^2$$

其中: VR=保留体积

Wh=半高峰宽

L=柱高

N=理论塔板数

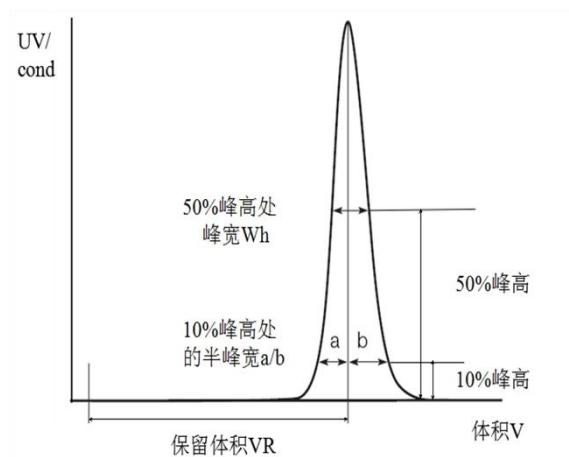
VR 和 Wh 的单位应一致;

$$As=b/a$$

其中:

a= 在 10%峰高处的第一个半峰宽

b= 在 10%峰高处的第二个半峰宽



3. 结果评价

由以上公式计算出的 HETP 的数值若小于三倍溶胀后的介质平均颗粒大小且非对称因子在 0.8~1.8 则判定为合格。对于不理想的柱效需要分析原因并重新装柱。

对于不同应用领域, 所需要的柱效不同:

- 当纯化分离需要高分辨率时, 柱效要求较高; HETP 在 2-4 倍的介质平均颗粒。
- 组份分离时, 柱效要求不高。

层析介质清洗和再生

随着层析介质的使用次数增加, 污染物在层析柱上积累也在不断增加, 定期的在位清洗能防止污染物的累积, 保持稳定的工作状态。根据介质的污染程度确定在位清洗的频率 (如果污染严重建议每次使用之后都应该进行

在位清洗来保证结果重复性)。对于不同类型的杂质和污染物建议清洗条件如下:

1. 先用 2 个柱体积的 2M NaCl 冲洗掉结合比较紧的蛋白或选择 1M NaAC, pH 3 通过改变 pH 来去除结合较强的蛋白。
2. 对于强疏水性蛋白、沉淀蛋白的去除: 先用 2-3CV 1M NaOH 清洗, 然后立即用 5-10CV 纯水冲洗。
3. 脂蛋白和脂类物质的去除: 先用 5-10CV 的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗, 后用 5-10CV 纯水冲洗。

层析介质灭菌

NW Rose Plus Q 强阴离子交换层析介质以采用 1M NaOH 处理 0.5-1h 以上达到灭菌和去除热原的目的。

层析介质长期储存

使用后的 NW Rose Plus Q 强阴离子交换层析介质密闭保存储存于 20%乙醇中, 为了防止乙醇挥发以及微生物生长, 建议 3 个月更换一次新鲜的 20%乙醇。

销毁和回收

由于 NW Rose Plus Q 在自然界很难降解, 为了保护环境建议采用焚烧处理。

问与答

如果您在使用 NW Rose Plus Q 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。

问题 1 层析搅拌为匀浆后，会有一些细小白色的泡沫漂浮？

这种现象一般是在使用一段时间，或在介质搅拌中使用了磁力搅拌器或介质转移中使用了蠕动泵，造成介质微球破碎。或介质长时间没有使用，介质沉降过实，开始搅拌太过剧烈。

问题 2 蛋白经过离子交换后纯度不高？

离子交换的分辨率主要有几个因素决定：

- 层析介质的柱效，柱效高分辨率高。见柱效测定。
- 层析介质的粒径，粒径小分辨率高；粒径大，分辨率低。
- 洗脱方式，线性洗脱分辨率高。
- 按照样品中目标与杂质的电荷差别，在试验中找到差别最大环境的 pH，选用对应的层析介质。

问题 3 纯化后我的蛋白收率很低，怎么办？

检测流穿收集中样品的浓度（或活性），确认样品是否吸附到层析介质上，还是部分吸附。（样品过载，也是收率低的原因）
在再生液中检测样品，样品是否吸附很紧。（可以改变缓冲液和介质类型）
CIP 中是否有样品存在（样品沉淀在层析柱中，更改层析条件）。

问题 4 样品不吸附

样品不吸附有：

是否过载，检测流穿中的样品浓度活性；
样品的环境可能不带电或电荷与层析介质带电荷相同。

问题 5 是否可以重复上样，可以重复上样多少次？

检测纯化目的是否达到，层析介质是否被污染。一般样品澄清、无颗粒、无沉淀，分离后的样品同样澄清，此类样品可以重复上样 10-15 次。

问题 6 离子交换纯化后如何脱盐？

可以使用凝胶过滤技术脱盐，如：NW DEX G-25C，或在洗脱时采用 pH 洗脱的方式。

问题 7 层析介质变色，结块。

这种现象一般是使用过一段时间的层析介质，层析介质被样品污染，例如：样品中的色素、脂类以及核酸类物质；尝试不同的 CIP 方法解决。对于一般的样品 NW Rose Plus 系列层析介质可以使用 300-600 次，对于样品复杂的样品可以使用 100-200 次。

问题 8 如何确定层析介质的寿命？

实验室使用：一般从层析介质的柱压，流速，颜色等简单判断介质寿命。
工业生产中：需要严格按照工艺验证的方法确定介质寿命。

订货信息

产品型号	包装	货号
NW Rose Plus Q	25 mL	60023-531600-2025
	100 mL	60023-531600-2100
	500 mL	60023-531600-2500
	1 L	60023-531600-1001
	5 L	60023-531600-1005
	10 L	60023-531600-1010

注：可以提供 7.7 mm × 22 mm 、 16 mm × 25 mm 、 7.7 mm × 100 mm 的层析预装柱。更多规格型号或定制需求，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

邮箱：info@nanomicrotech.com

(本公司产品仅限科研或工业使用)

中文网站：www.nanomicrotech.com

英文网站：en.nanomicrotech.com

2022-苏州纳微科技股份有限公司版权所有

总部地址：苏州工业园区百川街2号 215123

2022年11月第一版

