
Nano 系列

离子交换层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0103

版本号：A2

Nano 系列

离子交换层析介质

离子交换是根据分子表面电荷（种类、数目和分布）的差异实现对不同物质的分离，是生物大分子分离纯化最常用的方法。纳微科技提供的离子交换层析介质是以聚合物（聚丙烯酸酯或聚苯乙烯—二乙烯基苯共聚物）为基质，该基质经过表面亲水改性后再键合离子交换基团，同时具备对生物活性大分子良好的生物相容性和物化稳定性，极大地提高了纯化效率。纳微科技提供的 Nano 系列离子交换产品，适用于抗体、蛋白、多肽、核酸和小分子药的精纯。



图 1. Nano 系列产品电镜图

表 2. Nano 系列基本属性数据

名称	NanoSP®-10L	NanoQ-10L	NanoSP®-15L	NanoQ-15L	NanoQ-30L
分离原理	强阳离子交换	强阴离子交换	强阳离子交换	强阴离子交换	强阴离子交换
基质	单分散聚苯乙烯/二乙烯基苯 (PS-DVB)				
粒径	~ 10 μm	~ 10 μm	~ 15 μm	~ 15 μm	~ 30 μm
配基	—(CH ₂) ₃ SO ₃ ⁻	—CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃	—(CH ₂) ₃ SO ₃ ⁻	—CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃	—CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃
配基密度	~0.27 meq/mL	~0.28 meq/mL	~0.26 meq/mL	~0.27 meq/mL	~0.21 meq/mL
动态载量	~80 mg/mL (Lys)	~65 mg/mL (BSA)	~80 mg/mL (Lys)	~55 mg/mL (BSA)	~45 mg/mL (BSA)
最大耐压	8.0 MPa	8.0 MPa	6.0 MPa	6.0 MPa	2.0 MPa
CIP 在位清洗	1 M NaOH	0.5 M NaOH	1 M NaOH	0.5 M NaOH	0.5 M NaOH
推荐流速	100-750 cm/h	100-750 cm/h	150-800 cm/h	150-800 cm/h	250-1000 cm/h

Nano 系列产品主要特点:

- 亲水膜层表面改性
- 刚性强
- 分辨率高
- 反压低
- 寿命长
- 可长时间耐酸碱

表 1. 离子交换功能团分类及用途

类型	强阳离子交换	强阴离子交换
化学结构	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻	-CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃
缩写	SP	Q
主要特点	酸性强, pH1-14 均适用	碱性很强, pH1-14 均适用
pKa 值	<2	>12

pH 稳定性	2~12
化学稳定性	所有常用缓冲液, 1 M 醋酸, 1 M 氢氧化钠, 1 M 盐酸, 70%乙醇、30%异丙醇, 30%乙腈, 1%SDS, 6M 盐酸胍、8 M 尿素等常用有机溶剂; 避免接触强氧化剂。不要暴露于强氧化剂(如次氯酸盐)、氧化酸(如硝酸)、强还原剂(如亚硫酸盐)、丙酮或苯甲醇中。
使用温度	4-30 °C
存储条件	20%乙醇, 4-25 °C

注:

1.pH 值稳定范围是指使用、再生和在位清洗的 PH 区间

2.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)

层析柱装填

Nano 系列产品储存于 20%乙醇中, 1.5 Kg 匀浆液对应 1 L 介质体积, 推荐装柱匀浆流动相为 0.1 M NaCl 或纯水, 推荐装填系数为 1.05-1.1。

Nano 系列产品是高机械强度“硬胶”, 既可装低压柱也可装中高压柱, 比较合适的柱子筛板型号为 10-23 μm 。装柱步骤如下:

1) 计算所需层析介质匀浆液质量

所需匀浆液质量 (Kg) = 目标柱体积 (L) \times 1.5 Kg/L \times 1.05。

例如, 装填 40 cm I.D \times 20 cm 的 25 L 层析柱所需匀浆液质量为: 25 L \times 1.5 Kg/L \times 1.05 = 39.375 Kg。为保证层析介质体积计量准确度, 在称量之前, 必须保证匀浆液浓度是均匀的 (可以使用塑料勺缓慢搅拌均匀或使用低于 50 rpm 的机械搅拌匀浆, 匀浆完毕静置时间不可超过 10 分钟)。

2) 装柱匀浆液的准备

开始前, 准备足量的 0.1 M NaCl (或纯水) 作为装柱液进行装柱。下文以装柱液代指 0.1 M NaCl (纯水)。

实验室规模的小柱子 (内径 \leq 50 mm):

将计算所需的 20 %乙醇介质悬液转移到过滤漏斗, 抽滤后加入介质 3 倍体积的装柱液, 用塑料勺缓慢搅拌均匀后再抽滤。重复上述步骤两次使层析介质悬液中原先的 20%乙醇被充分置换成装柱液, 最后补加装柱液定容至目标柱体积的 1.67~2 倍 (浆液浓度 50%~60%)。

大柱子 (内径 > 50 mm):

将计算所需的 20 %乙醇介质悬液在匀浆罐中静置沉降 2 小时以上, 然后去除上清液 (上清液中可能会有一些轻微浑浊), 加入与去除的上清液相同体积的装柱液。缓慢搅拌均匀浆液后静置沉降 2 小时以上, 然后去除上清液。重复上述步骤两到三次使介质悬液充分置换成装柱液, 最后补加装柱液定容至目标柱体积的 1.67~2 倍 (浆液浓度 50%~60%)。

注意: 在装柱匀浆液的准备过程中, 尽量避免碾压摩擦介质, 不可用磁力搅拌或挤压式蠕动泵, 机械搅拌时桨叶不可离器壁太近, 另外层析介质如果需要重新装柱, 也须按上述过滤或沉降步骤来准备装柱匀浆液。

3) 装柱

● 流动装填:

3-1) 将上述介质悬液充分匀浆, 并转移到柱管中。

3-2) 用装柱液为流动相开始装柱 (装柱刚开始时流出液有可能观察到一些浑浊现象, 随着装柱进行 1-2 个柱体积之后会变清)。

注意: 装柱起始流速不要太高。

3-3) 待柱床高度稳定后, 提高流速至目标最高流速 (推荐最高流速为使用流速的 2 倍) 或者使压强达到目标最高压强 (推荐压强不超过 1.0 MPa), 压力恒定后再稳定 20 分钟。

3-4) 将活塞调至胶面以下 2-3 毫米位置即可。

● 轴向压缩装填 (内径 > 300 mm):

3-1) 将柱子进行清洗, 排气。

3-2) 将匀浆罐和柱子连接, 然后排除柱子内多余的溶液, 将活塞降至距下筛板 5 cm。

3-3) 打开进料阀向上移动活塞进行抽料。抽料速度 200~300 cm/h。

根据料液浓度确定抽料的量, 换算活塞移动距离。关闭进料阀, 向下移动活塞进行压柱, 压柱速度 60~100 cm/h。

压至填料全部沉降, 柱床高度不再增加, 停止移动活塞, 读取柱床高度, 此时再根据 1.05 的压缩比计算最终活塞最终的位置。

注意: 未避免匀浆液在抽料时进气泡, 一般按照 120%以上计算填料质量。

柱效评价

装好的色谱柱应使用 2 CV 0.5 M NaCl 溶液平衡，以 100 cm/h 流速进行柱效测试，具体测试参数详见表 3：

表 3. Nano 系列装填离子交换层析柱的柱效测试方法

样品	2 M NaCl
上样量	1~5% 柱体积
洗脱液	0.5 M NaCl
线性流速	100 cm/h
检测	2 M NaCl 上样：电导检测仪
合格标准	As: 0.8-1.5; Plates (N/m) : >3000

使用方法

1) **平衡。**用 5 CV 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。

故障排除

如果您在使用 Nano 系列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。

现象	原因分析	建议措施
柱压升高	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
	样品在柱子上发生沉淀	执行在位清洗操作（参考再生条件）
	样品较脏或有吸附作用较强的物质残留在填料上	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
样品吸附不够充分	样品溶液中离子强度太高	降低样品溶液中的离子强度，如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
样品在洗脱过程中不被洗脱	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

2) **上样。**固体样品可用平衡液溶解配制；低浓度样品溶液可提前浓缩；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。上样量根据介质的载量和样品中目标蛋白的含量计算，上样前确保载量缓冲液应尽可能与平衡液一致。

3) **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改变盐浓度或流动相 pH 的方法依次洗脱吸附于层析介质上的样品。

4) **再生清洗 (CIP)。**定期 CIP 清洗可以防止介质床中蛋白质沉淀污染物的积聚，有助于保持层析介质的载量、分离效果、流动特性等性能。应根据存在的污染物类型为每个工艺设计特定的 CIP 清洗方法。CIP 清洗频率取决于起始料液的性质和工艺条件，推荐 CIP 清洗方法如下。

依次使用 5 CV 的 1-2 M NaCl，5 CV 的 0.5-1 M NaOH，3 CV 的水，然后 5 CV 的 1 M 醋酸清洗。

储存

使用后的层析介质或预装柱再生完全后，密封保存在 20%乙醇或 10 mM NaOH 中，建议保存温度 4~25 °C。

未使用的层析介质或预装柱，防止乙醇挥发以及微生物生长，建议 3 个月更换一次 20%乙醇。

	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）
分辨率降低	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
进样若干次后对样品的吸附能力降低	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）
使用中柱床出现裂痕	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
	装填质量欠佳	重新装填
基线漂移	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
出现不明杂峰	前一个样品的不完全洗脱	对柱子进行再生
	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
平衡时间过长	CIP 后直接再平衡	先用 2 CV 的 buffer B（含 1 M NaCl），再用 buffer A 进行平衡

订货信息

产品型号	包装	货号
NanoSP-10L	30 mL	04042-010100-2030
	50 mL	04042-010100-2050
	100 mL	04042-010100-2100
	300 mL	04042-010100-2300
	500 mL	04042-010100-2500
	1 L	04042-010100-1001
	5 L	04042-010100-1005
	10 L	04042-010100-1010
	50 L	04042-010100-1050
	100 L	04042-010100-1100
NanoQ-10L	30 mL	04044-010100-2030
	50 mL	04044-010100-2050
	100 mL	04044-010100-2100
	300 mL	04044-010100-2300
	500 mL	04044-010100-2500
	1 L	04044-010100-1001
	5 L	04044-010100-1005
	10 L	04044-010100-1010
	50 L	04044-010100-1050
	100 L	04044-010100-1100
NanoSP-15L	30 mL	04042-015100-2030
	50 mL	04042-015100-2050
	100 mL	04042-015100-2100
	300 mL	04042-015100-2300
	500 mL	04042-015100-2500
	1 L	04042-015100-1001
	5 L	04042-015100-1005
	10 L	04042-015100-1010
	50 L	04042-015100-1050
	100 L	04042-015100-1100
NanoQ-15L	30 mL	04044-015100-2030
	50 mL	04044-015100-2050

	100 mL	04044-015100-2100
	300 mL	04044-015100-2300
	500 mL	04044-015100-2500
	1 L	04044-015100-1001
	5 L	04044-015100-1005
	10 L	04044-015100-1010
	50 L	04044-015100-1050
	100 L	04044-015100-1100
NanoQ-30L	30 mL	04044-030100-2030
	50 mL	04044-030100-2050
	100 mL	04044-030100-2100
	300 mL	04044-030100-2300
	500 mL	04044-030100-2500
	1 L	04044-030100-1001
	5 L	04044-030100-1005
	10 L	04044-030100-1010
	50 L	04044-030100-1050
100 L	04044-030100-1100	

注：纳微科技还可以提供 10mm × 100 mm 、 10 mm × 150 mm 、 10 mm × 250 mm 的制备柱；另外 30μm 还提供 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

中文网站：www.nanomicrotech.com

总部地址：苏州工业园区百川街2号 215123

邮箱：info@nanomicrotech.com

英文网站：en.nanomicrotech.com

(本公司产品仅限科研或工业使用)

2022-苏州纳微科技股份有限公司版权所有

2023年10月第二版

