



NanoGel™离子交换层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0104

版本号：A2

NanoGel™层析介质

使用说明

产品简介

为提高生物大规模制药生产效率并降低成本，特别是针对单克隆抗体(mAb)和病毒疫苗等生物大分子的分离纯化需求，纳微科技通过使用精准制造微球技术开发出了新一代高性能离子交换层析介质 NanoGel™-50SP、 NanoGel™-50SPHP、 NanoGel™-50Q 和 NanoGel™-50Q HC。该系列产品以机械强度优异、化学稳定性好、粒径均一、且具有开放型超大孔结构的聚苯乙烯/二乙烯基苯(PS-DVB)微球为基质，通过表面亲水性改性降低非特异性吸附，并结合独特的表面功能化技术，使产品具有高流速、高分辨率、高载量和低反压的层析优势。

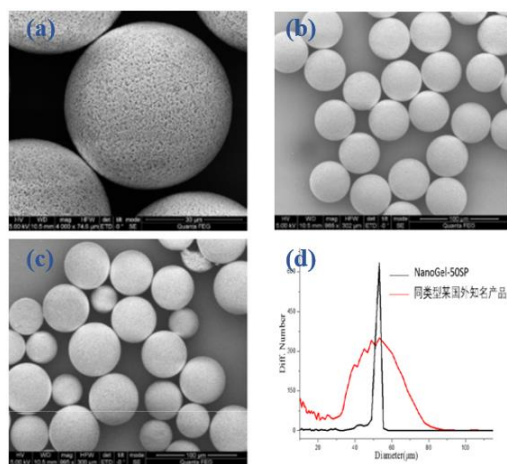


图 1. 纳微科技 NanoGel™-50SP 与某国际知名填料 P-50XS 扫描电镜对比及库尔特粒径测量结果

注：图 a,b 是 NanoGel™-50SP，图 c 是 P-50XS，图 d 是库尔特粒径测量对两种介质的比较。

图 1 是 NanoGel™-50 系列离子交换层析介质与 P-50XS 的单分散性对比图，从图中可以看出，NanoGel™-50 系列层析介质微球粒径均一，而 P-50XS

则呈现出微球粒径分布宽且含有一些团聚 (agglomeration) 成分。

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	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$	$-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$
缩写	SP	Q
主要特点	酸性强, pH=1-14 均适用	碱性很强, pH=1-14 均适用
pKa 值	<2	>12

表 2. NanoGel™-50 (SP 和 Q) 基本属性数据

名称	NanoGel™-50SP	NanoGel™-50SP HP	NanoGel™-50Q	NanoGel™-50Q HC
基质	单分散聚苯乙烯/二乙烯基苯 (PS-DVB)			
粒径	~ 50 μm			
孔径	1500 Å	2500 Å	1500 Å	1500 Å
交换种类	强阳	强阳	强阴	强阴
离子配基	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻		CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃	
离子密度	~0.16 meq/mL	~0.14 meq/mL	~0.20 meq/mL	~0.22 meq/mL
动态载量	~100 mg/mL (Lys)	~70 mg/mL (hIgG)	~100 mg/mL (BSA)	~150 mg/mL (BSA)
耐压范围	< 2.0 MPa			
PH 范围	1-14			
工作温度	4-30 °C			
化学稳定性	所有常用缓冲液, 1M 醋酸, 1M 氢氧化钠, 1M 盐酸, 100%乙醇、IPA 等常用有机溶剂; 避免接触强氧化剂。			

产品特性

高流速、低反压

高流速层析可以缩短层析纯化周期，提高生产效率。NanoGel™-50 系列产品既有传统 PS-DVB“硬胶”的高机械强度，又有单分散完美球形介质的优良物理特性，因而具有低反压、高流速的优势。下图展示的是 NanoGel™-50 离子交换层析介质在较高流速范围依然具有良好的压力-流速线性关系。

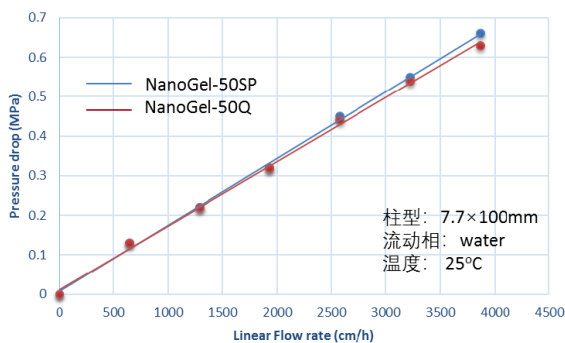


图 2. NanoGel™-50SP 和 NanoGel™-50Q 的压力-流速曲线

高分辨率

由于介质单分散的物理特性以及开放型超大孔所赋予的高效传质的特点，NanoGel™ 系列产品表现出优异的分辨率。例如，NanoGel™ -50SP 在标准蛋白分离时显示出比以分辨率著称的同类型某国外知名产品更好的分辨率 (图 3)。

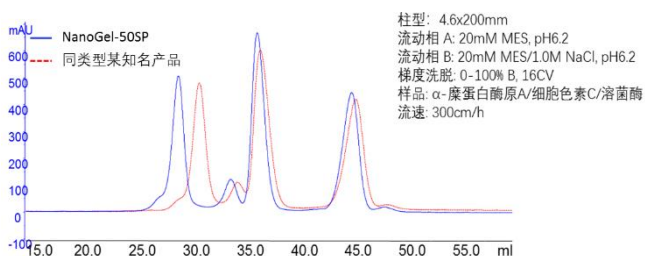


图 3. NanoGel™-50SP 和产品 P-50XS 的标准蛋白分离对比

高效传质实现高流速下的高动态载量

由于采用了独特的表面功能化技术，NanoGel™-50SP

和 NanoGel™-50Q 都具有动态载量高的优势，而且得益于它们的开放型超大孔结构所带来的传质速度快的优点，NanoGel™-50 系列产品在较高流速下（较短的保留时间下）依然有稳定的高动态载量，详见下图。

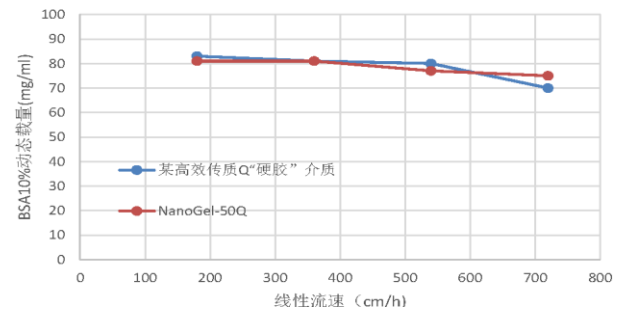


图 4. NanoGel™-50Q 和同类型具有高效传质的“硬胶”层析介质在不同保留时间下的动态载量比较。

新一代 NanoGel™-50Q HC 在 NanoGel™-50Q 的优点基础上，在不同单抗上具有更高的动态载量，见图 5。

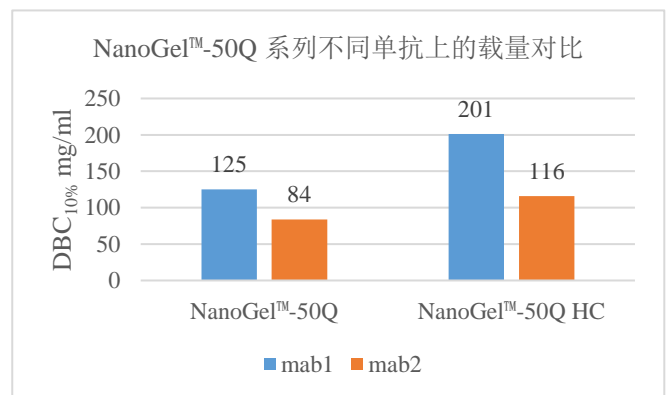


图 5. NanoGel™-50Q 和 NanoGel™-50Q HC 在不同单抗上的流穿载量对比。

较宽范围盐浓度下具有稳定的动态载量

NanoGel™ 系列产品具有一定的耐盐性 (salt-tolerance)，相较同类型产品，它们在不同盐浓度条件下具有更稳定的动态载量 (图 6)。这个特点使得它们在较宽范围的电导工艺条件下都能实现目标蛋白的吸

附或者杂质的去除，从而可以提高纯化工艺开发的灵活度和生产效率。

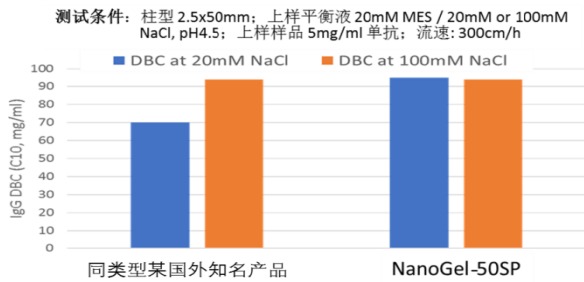


图 6. 不同盐溶度 NanoGel™-50SP 与 P-50XS 动态载量的比较

产品应用

由于兼具高流速、高动态载量的特点，NanoGel™-50SP 和 NanoGel™-50Q 非常适合快速高效层析工艺的应用。另外，优异的分辨率使其在精细纯化阶段具有比传统离子交换层析介质更好的杂质去除能力。由于具有开放型超大孔结构，它们在生物大分子（包括单克隆抗体、病毒/疫苗、以及较高分子量的重组蛋白等）的层析纯化应用时更具优势。图 7 展示的是 NanoGel™-50SP 在单克隆抗体的多聚体去除应用中的优良表现，其多聚体去除效果以及回收率与同类型国外某知名产品 P-50XS 相似。

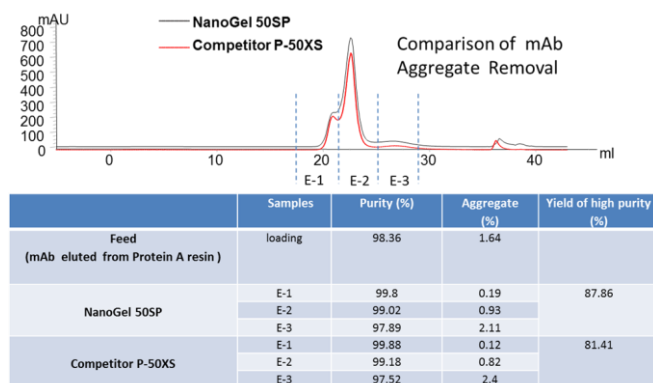


图 7. 单抗多聚体去除的应用评估

纯化操作步骤

层析柱装填

NanoGel™-50 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，推荐装柱匀浆液流动相为纯水，推荐装填系数为 1.05。

NanoGel™-50 介质是高机械强度“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) × 1.5 Kg/L × 1.05。

例如，装填 40 cm I.D × 20 cm 的 25 L 层析柱所需匀浆液质量为：25 L × 1.5 Kg/L × 1.05 = 39.4 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 的机械搅拌均匀，匀浆完毕静置时间不可超过 10 分钟）。

2) 装柱匀浆液的准备：

实验室规模的小柱子（内径 ≤ 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 倍体积的去离子水，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来的 20%乙醇被充分置换成纯水，最后补加装柱液使浆液总体积和置换前浆液总体积大致相同。

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约 2 小时，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 0.1 M NaCl 装柱液。缓慢搅拌均匀后静置沉降 2 小时，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 0.1 M NaCl 装柱液，最后补加装柱液使浆液总体积和置换前浆液总体积大致相同。

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) 将上述介质悬液充分匀浆，并转移到柱管中。
 - 4) 用 0.1 M NaCl 为装柱流动相开始装柱（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。
- 5) 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。
 - 6) 将活塞调至胶面以下 2-3 毫米位置即可。

柱效评价

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

表 3. NanoGel™-50 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

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。

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。

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 清洗的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。

NanoGel™-50 阳离子：先用 5 个柱体积 1-2 M 的 NaCl 淋洗，然后用 5 个柱体积的 0.5-1 M 的 NaOH 清洗。

NanoGel™-50 阴离子：依次使用 5 个柱体积的 1-2 M NaCl，5 个柱体积的 0.5-1 M NaOH，3 个柱体积的水，然后 5 个柱体积的 1 M 的醋酸清洗。

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 10mM 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。

故障排除

如果您在使用 NanoGel™ 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

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没有样品的空白梯度
-------------------------	--------------------

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

50Q	100 mL	04064-050200-2100
	500 mL	04064-050200-2500
	1 L	04064-050200-1001
	10 L	04064-050200-1010
	50 L	04064-050200-1050
	100 L	04064-050200-1100
	NanoGel™-50Q HC	30 mL
100 mL		04064-050150-2100
500 mL		04064-050150-2500
1 L		04064-050150-1001
10 L		04064-050150-1010
50 L		04064-050150-1050
100 L		04064-050150-1100

订货信息

名称	包装规格	货号
NanoGel™-50SP	30 mL	04062-050200-2030
	100 mL	04062-050200-2100
	500 mL	04062-050200-2500
	1 L	04062-050200-1001
	10 L	04062-050200-1010
	50 L	04062-050200-1050
	100 L	04062-050200-1100
NanoGel™-50SP HP	30 mL	04062-050150-2030
	100 mL	04062-050150-2100
	500 mL	04062-050150-2500
	1 L	04062-050150-1001
	10 L	04062-050150-1010
	50 L	04062-050150-1050
	100 L	04062-050150-1100
NanoGel™-	30 mL	04064-050200-2030

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: ifo@nanomicrotech.com

总部地址: 苏州工业园区百川街 2 号 215123



2021 年版