

---

# UniGel ET Removal

亲和层析介质

## 产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0312

版本号：A0



# UniGel ET Removal

## 亲和层析介质

UniGel ET Removal 是一款采用了机械强度高、化学稳定性好、粒径均一的单分散聚丙烯酸酯微球为基质的内毒素去除层析介质，通过在基球上键合聚赖氨酸 (Poly( $\epsilon$ -lysine))，可选择性的结合样品中混入的内毒素去除。通过完善的表面亲水性改性以降低非特异性吸附，并结合了独特的表面功能化技术，使其具有高流速、低反压、高载量等卓越层析性能优势。

表 1. 纳微科技 UniGel ET Removal 亲和层析介质技术参数

产品型号	UniGel ET Removal
分离原理	特殊亲和捕获
基质	单分散聚丙烯酸酯
粒径	~65 $\mu\text{m}$
最大耐压	0.8 MPa
pH 稳定性	2-12
化学稳定性	所有常用缓冲液，20 mM 磷酸钠、1%SDS、6 M 盐酸胍、70%乙醇、6 M 尿素等常用有机溶剂；避免长期接触强酸强碱。
使用温度	2-40°C

### 操作指南

#### 匀浆浓度测定

UniGel ET Removal 亲和层析介质保存在 20%乙醇溶液装瓶出售，匀浆浓度 ( $C_s$ ) 大约 65% (v/v)。匀浆液浓度是指层析介质恒定沉降体积与匀浆液的总体积的比值。如需准确测定  $C_s$ ，可以将原容器内介质摇匀，然后转移 10 mL 匀浆到量筒里静置过夜，读出沉降体积  $V_r$ ，计算匀浆浓度：

$$\text{Eq. 1 } C_s (\%) = 100 \times (V_r/10) = 10 V_r$$

为了获取最佳的装柱效果，推荐使用 0.5 M NaCl 溶液配制 50~70 %的介质匀浆液。

### 介质前处理

#### 1) 计算所装色谱柱的柱体积 ( $V_c$ ) :

$$\text{Eq. 2 } V_c = h \times \pi r^2$$

$h$ : 色谱层析柱高度;  $r$ : 色谱层析柱半径

#### 2) 计算所需匀浆体积 ( $V_s$ ) :

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，推荐填料的体积过量一些，压缩比 (Compression factor, CF) 一般为 1.05。

$$\text{Eq. 3 } V_s = 100 \times (V_c \times \text{CF})/C_s$$

#### 3) 制备装柱介质匀浆:

将原容器中层析介质摇匀，量取所需原液体积  $V_s$  至适当容器中，静置让介质颗粒自然沉降后，倾斜倒去上清液；用 5 倍柱体积以上的装柱溶液，如 0.5 M NaCl，清洗介质以去除原保存液，再用装柱溶液调整匀浆浓度到 50-70% (v/v)。

### 层析柱装填

UniGel ET Removal 层析介质产品储存于 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 0.5 M NaCl 或纯水，推荐装填系数为 1.05。

装柱步骤如下：

#### 1) 计算所需层析介质匀浆液质量

$$\text{所需匀浆液质量 (Kg)} = \text{目标柱体积 (L)} \times 1.5 \text{ Kg/L} \times 1.05.$$

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=39.375 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 0.5 M NaCl (或纯水) 作为装柱液进行装柱。下文以装柱液代指 0.5 M NaCl (纯水)。

### 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

装好的层析柱先使用 2 CV 0.5 M NaCl 溶液平衡, 再用 2.0 M NaCl 以 100 cm/h 流速进行柱效测试; 亦可使用去离子水平衡层析柱并用丙酮溶液做测试。具体测试参数详见表 3:

表 3.UniGel ET Removal 层析色谱柱的柱效测试条件。

样品	5% (v/v)丙酮的水溶液或 2 M NaCl
上样量	1 ~ 5 %柱体积
流动相	去离子水或 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
合格标准	As: 0.8-1.5; Plates (N/m) : >2500

## 使用方法

### 1) 冲洗并平衡:

使用 3-5 CV 0.2-0.5 M 不含内毒素的氢氧化钠水溶液过色谱柱, 控制流速使介质与氢氧化钠水溶液的接触时间为 0.5-2 h;  
使用 3-5 CV 的无内毒素水清洗色谱柱;

### 2) 平衡:

使用 3-5 CV 的无内毒素平衡液平衡清洗色谱柱;

### 3) 进样:

在 4-25°C 下, 以 10 至 50 cm / h 的流速将样品通过色谱柱;

### 4) 收集:

收集流出液并测定流出物的内毒素含量, 此为最终样品溶液;

### 5) 再生:

清洗后, 可使用步骤 1 至 3 的方法再生色谱柱。

### 6) 保存:

使用结束后,先用纯水替换层析柱中缓冲盐,然后用 20%乙醇保存。

## 产品应用

### 实验条件

设备: SCG 液相色谱仪

层析柱: 16 × 40 mm

流速: 1.0 ml/min

样品: rHSA 原液 87.9 mg/ml

上样量: 10 ml 样品/ml 介质

平衡缓冲液: 20 mM PBS, 0.1 M NaCl, pH7.0

洗脱液缓冲: 20 mM PBS, 1.0 M NaCl, pH 7.0

CIP: 0.5 M NaOH

### 实验结果

	UniGel ET Removal	某竞品 ET Clean L
上样液内毒素含量 (EU/ml)	187	187
流穿液内毒素含量 (EU/ml)	16	96
内毒素去除率	91.4%	48.6%
蛋白回收率	99.6%	97.4%

## 长期储存

介质密封保存在 20 %乙醇, 建议保存温度为 2~8 °C。注意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。

注意:使用过程中,所用样品及流动相必须用孔径为 0.45 μm 滤膜过滤。

## 订货信息

产品型号	包装	货号
UniGel ET Removal	30 mL	17009-065100-2030
	50 mL	17009-065100-2050
	100 mL	17009-065100-2100
	300 mL	17009-065100-2300
	500 mL	17009-065100-2500
	1 L	17009-065100-1001
	5 L	17009-065100-1005
	10 L	17009-065100-1010
	50 L	17009-065100-1050
	100 L	17009-065100-1100

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06月第一版

