

---

# UniGel®系列

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



# UniGel®系列

## 离子交换层析介质

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, 纳微科技提供基于单分散均一粒径和多分散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、精细纯化以及分析纯化各环节的应用, 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)	酸性较弱, 适用于 pH>4 的流动相	4-6
强阳离子交换	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (SP)	酸性强, pH2-12 均适用	<2
弱阴离子交换	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> H(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (DEAE)	碱性较弱, 适用于 pH<9 的流动相	>9
强阴离子交换	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	碱性很强, pH2-	>12

**表 2. UniGel®基本属性数据**

名称	UniGel®-30CM	UniGel®-30SP	UniGel®-30DEAE	UniGel®-30Q
分离原理	弱阳离子交换	强阳离子交换	弱阴离子交换	强阴离子交换
基质	聚甲酯丙烯酸酯 (PMMA)			
粒径	~ 30 μm			
配基	-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> H(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
配基密度	~0.28 meq/mL	~0.11 meq/mL	~0.09 meq/mL	~0.09 meq/mL
动态载量	~105 mg/mL (Lys)	~115 mg/mL (Lys)	~80 mg/mL (BSA)	~80 mg/mL (BSA)
最大耐压	1.0 MPa			
CIP 在位清洗	1 M NaOH	1 M NaOH	0.5 M NaOH	0.5 M NaOH
推荐流速	50-300 cm/h			
pH 稳定性	2-12			

子交换	(Q)	12 均适用	
-----	-----	--------	--

- 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。

UniGel®离子交换层析介质的优势:

- 1) 超高动态载量, 一般每毫升结合>105 mg 溶菌酶 (阳离子交换) 和 >90 mg BSA (阴离子交换);
- 2) 可提供粒径 30/50/65/80 μm 等多种不同粒径的离子交换介质以满足中纯到精纯的需求;
- 3) 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;
- 4) 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;
- 5) 优越的耐碱性, 可以有效延长使用寿命, 提高生产效率, 降低生产成本, 提升企业效益。

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。
使用温度	4-30 °C
存储条件	20%乙醇，4-25 °C

名称	UniGel®-80CM	UniGel®-80SP	UniGel®-80DEAE	UniGel®-80Q
分离原理	弱阳离子交换	强阳离子交换	弱阴离子交换	强阴离子交换
基质	聚甲基丙烯酸酯 (PMMA)			
粒径	~ 80 μm			
配基	-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> H(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
配基密度	~0.28 meq/mL	~0.11 meq/mL	~0.09 meq/mL	~0.09 meq/mL
动态载量	~105 mg/mL (Lys)	~115 mg/mL (Lys)	~80 mg/mL (BSA)	~80 mg/mL (BSA)
最大耐压	0.5 MPa			
CIP 在位清洗	0.5 M NaOH	0.5 M NaOH	0.5 M NaOH	0.5 M NaOH
推荐流速	150-750 cm/h			
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。			
使用温度	4-30 °C			
存储条件	20%乙醇，4-25 °C			

## 高化学稳定性

一般根据不同产品使用环境来设计，将 UniGel® 系列高载量离子交换介质置于 0.5 M NaOH 溶液中 15 天内，于不同时间点测试其对蛋白质的动态载量，观测该数值在不同时间点的变化波动性情况可知，UniGel® 系列高载量离子交换介质具有较高的耐碱性，化学稳定性良好。

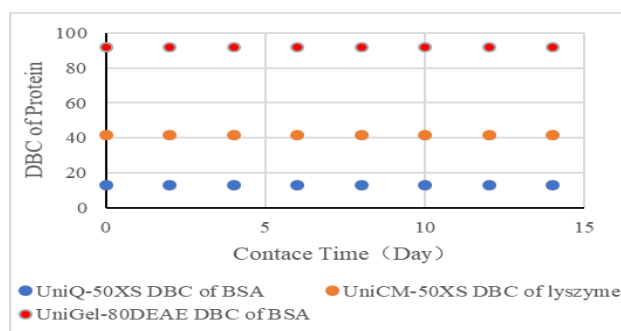


图 2. UniGel® 离子交换层析介质化学稳定性测试结果。

## 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，加入延长臂结构设计，UniGel®系列高载量离子交换介质具有动态载量高的优势。下列实验以 BSA (2 mg/mL) in 25 mM Tris HCl (pH 7.4) 为样品，180 cm/h 的流速进行测试。黑色线条表示 UniGel®-80 DEAE 的动态载量，红色表示传统离子交换填料的动态载量，说明 UniGel®-80 DEAE 载量明显比传统填料的载量高。UniGel®系列同传统离子交换填料对比，可见在同等条件下 UniGel®-80 DEAE 的载量高于传统离子交换填料。

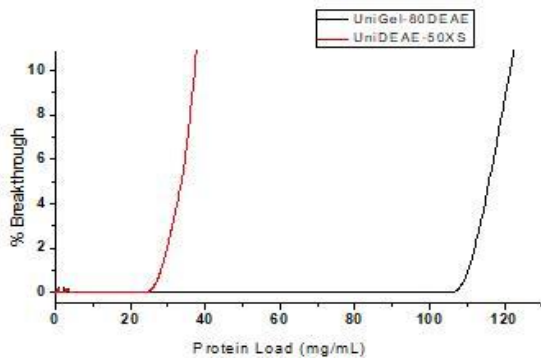


图 3. UniGel®离子交换层析介质动态载量测试。

## 层析柱装填

UniGel®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。UniGel®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) × 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 = 39.375 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 ≤ 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. UniGel®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。

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。

## 故障排除

如果您在使用 UniGel®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
	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
UniGel®-30Q	30 mL	04084-030100-2030
	50 mL	04084-030100-2050
	100 mL	04084-030100-2100
	300 mL	04084-030100-2300
	500 mL	04084-030100-2500
	1 L	04084-030100-1001
	5 L	04084-030100-1005
	10 L	04084-030100-1010
	50 L	04084-030100-1050
	100 L	04084-030100-1100
UniGel®-80Q	30 mL	04084-080100-2030
	50 mL	04084-080100-2050
	100 mL	04084-080100-2100
	300 mL	04084-080100-2300
	500 mL	04084-080100-2500
	1 L	04084-080100-1001
	5 L	04084-080100-1005
	10 L	04084-080100-1010
	50 L	04084-080100-1050
	100 L	04084-080100-1100
UniGel®-30SP	30 mL	04082-030100-2030
	50 mL	04082-030100-2050
	100 mL	04082-030100-2100
	300 mL	04082-030100-2300
	500 mL	04082-030100-2500
	1 L	04082-030100-1001
	5 L	04082-030100-1005
	10 L	04082-030100-1010
	50 L	04082-030100-1050
	100 L	04082-030100-1100
UniGel®-80SP	30 mL	04082-080100-2030
	50 mL	04082-080100-2050

	100 mL	04082-080100-2100
	300 mL	04082-080100-2300
	500 mL	04082-080100-2500
	1 L	04082-080100-1001
	5 L	04082-080100-1005
	10 L	04082-080100-1010
	50 L	04082-080100-1050
	100 L	04082-080100-1100
UniGel®-30CM	30 mL	04081-030100-2030
	50 mL	04081-030100-2050
	100 mL	04081-030100-2100
	300 mL	04081-030100-2300
	500 mL	04081-030100-2500
	1 L	04081-030100-1001
	5 L	04081-030100-1005
	10 L	04081-030100-1010
	50 L	04081-030100-1050
	100 L	04081-030100-1100
UniGel®-80CM	30 mL	04081-080100-2030
	50 mL	04081-080100-2050
	100 mL	04081-080100-2100
	300 mL	04081-080100-2300
	500 mL	04081-080100-2500
	1 L	04081-080100-1001
	5 L	04081-080100-1005
	10 L	04081-080100-1010
	50 L	04081-080100-1050
	100 L	04081-080100-1100
UniGel®-30DEAE	30 mL	04083-030100-2030
	50 mL	04083-030100-2050
	100 mL	04083-030100-2100
	300 mL	04083-030100-2300
	500 mL	04083-030100-2500
	1 L	04083-030100-1001
	5 L	04083-030100-1005



	10 L	04083-030100-1010
	50 L	04083-030100-1050
	100 L	04083-030100-1100
UniGel®-80DEAE	30 mL	04083-080100-2030
	50 mL	04083-080100-2050
	100 mL	04083-080100-2100
	300 mL	04083-080100-2300
	500 mL	04083-080100-2500
	1 L	04083-080100-1001
	5 L	04083-080100-1005
	10 L	04083-080100-1010
	50 L	04083-080100-1050
	100 L	04083-080100-1100

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

中文网站：[www.nanomicrotech.com](http://www.nanomicrotech.com)

总部地址：苏州工业园区百川街2号 215123

邮箱：[info@nanomicrotech.com](mailto:info@nanomicrotech.com)

英文网站：[en.nanomicrotech.com](http://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

2022年6月第二版

