

Q HP Chromatography Column, 1 mL

Q HP 强阴离子交换预装柱, 1 mL

产品信息

| 产品名称 | 产品编号 | 规格 |
|---|-----------|------|
| Q HP Chromatography Column, 1 mL (Q HP 强阴离子交换预装柱, 1 mL) | 20461ES03 | 1 mL |

产品描述

离子交换主要包括强阳离子交换、弱阳离子交换、强阴离子交换和弱阴离子交换 4 种, 广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的分离纯化。

Q 强阴离子交换层析填料 HP 以高度交联的 6%琼脂糖为基架, 可耐受较高的流速及更高的化学稳定性, 适合实验室及工业大规模纯化。本品带电基团-N⁺(CH₃)₃。

本品 Q 强阴离子交换预装柱是 Q 强阴离子交换层析填料 HP 的中压预装柱, 规格为 1 mL, 该预装柱具有标准接口, 可以适配商品化的各类中压色谱系统, 如 ÄKTA 等, 方便客户操作。

产品性质

| | |
|--------|--|
| 基质 | 高度交联的 6%琼脂糖微球 |
| 粒径 | 24-45 μm |
| 离子交换类型 | 强阴离子 |
| 载量 | ~0.14-0.20 mmol Cl ⁻ /mL 基质 |
| 耐压 | 0.3 MPa |
| 推荐使用流速 | 60~150cm/h |
| pH 范围 | 2-12 (长期) / 2-14 (短期) |
| 储存缓冲液 | 20%乙醇 |
| 柱子尺寸 | 0.7×2.5 cm (1 mL) |

运输和保存方法

冰袋运输。4-30°C 保存, 有效期 2 年。

使用方法

1 缓冲液的准备

应选择缓冲基团不与介质作用的缓冲盐, 平衡缓冲液宜采用低盐和低 pH (通常低于目的物等电点 1 个 pH 单位) 缓冲液以有利于目的物的结合, 同时需要考虑目的物在缓冲液中的稳定性。洗脱缓冲液通常为在平衡缓冲液中加入高浓度盐 (如 1M NaCl) 的缓冲液或高 pH 洗脱。所用水和 Buffer 在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

表 1: 阴离子交换缓冲液

| pH 范围 | 缓冲盐 | 浓度 (mM) | 平衡离子 | pKa(25°C) |
|---------|--------------------|---------|--|-----------|
| 4.3-5.3 | N-Methylpiperazine | 20 | Cl ⁻ | 4.75 |
| 4.8-5.8 | Piperazine | 20 | Cl ⁻ 或 HCOO ⁻ | 5.33 |
| 5.5-6.5 | L-Histidine | 20 | Cl ⁻ | 6.04 |
| 6.0-7.0 | bis-Tris | 20 | Cl ⁻ | 6.48 |
| 6.2-7.2 | bis-Tris propane | 20 | Cl ⁻ | 6.65 |
| 7.3-8.3 | Triethanolamine | 20 | Cl ⁻ 或 CH ₃ COO ⁻ | 7.76 |

| | | | | |
|-----------|-------------------------|----|--|-------|
| 7.6-8.6 | Tris | 20 | Cl ⁻ | 8.07 |
| 8.0-9.0 | N-Methyl-diethanolamine | 20 | SO ₄ ²⁻ | 8.52 |
| 8.0-9.0 | N-Methyl-diethanolamine | 50 | Cl ⁻ 或 CH ₃ COO ⁻ | 8.52 |
| 8.4-9.4 | Diethanolamine | 50 | Cl ⁻ | 8.88 |
| 8.4-9.4 | Propane 1,3-Diamino | 20 | Cl ⁻ | 8.88 |
| 8.6-9.6 | bis-Tris propane | 20 | Cl ⁻ | 9.10 |
| 9.0-10.0 | Ethanolamine | 20 | Cl ⁻ | 9.50 |
| 9.2-10.2 | Piperazine | 20 | Cl ⁻ | 9.73 |
| 10.0-11.0 | Propane 1,3-Diamino | 20 | Cl ⁻ | 10.55 |
| 10.6-11.6 | Piperidine | 20 | Cl ⁻ | 11.12 |

2 样品准备

样品在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3 样品纯化

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中。再折断下口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。
- 2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。
- 3) 使用至少 5 倍柱床体积的结合 Buffer 平衡色谱柱。
- 4) 利用泵或注射器上样。

【注】样品的粘度增加使得即使上样体积很少也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。

- 5) 用洗杂 Buffer 冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积）。
- 6) 用洗脱 Buffer 采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5 倍柱体积洗脱液就足够了。可以用一个小的梯度，例如 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。

5 填料清洗

离子交换填料每次使用后可以用 1M NaCl 甚至更高离子强度溶液或高 pH 溶液清洗，然后用至少 5 倍柱体积的 Buffer 进行平衡至离子强度或 pH 值稳定。

CIP (Cleaning In Place) 清洗

离子交换填料可以重复使用而无需再生，但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，这时可按照下面方法对填料进行清洗。

1) 去除一些沉淀或变性物质

用 2 倍柱体积的 1 M NaOH 溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH7.4 清洗。

2) 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 3-4 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH7.4 清洗。

3) 去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2 M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

注意事项

- 1) 请勿冷冻保存本产品。
- 2) 为了得到良好的分离效果，避免缓冲液与层析柱有太大温差变化。
- 3) 层析柱可以放在层析冷柜中使用，但是需要适当降低流速。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 5) 本产品仅作科研用途！

附表 问题及解决方案

| 问题 | 可能原因 | 推荐解决方案 |
|----|------|--------|
|----|------|--------|

| | | |
|--------|----------|--|
| 柱子反压过高 | 填料被堵塞 | 按照【填料清洗】部分对填料进行清洗。 |
| | | 样品中含有微小的固体颗粒, 建议使用前用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。 |
| 洗脱样品较杂 | 填料重复多次使用 | 按照【填料清洗】部分对填料进行清洗或更换新填料。 |
| | 平衡不充分 | 增加平衡液体积, 确保填料充分平衡/洗杂。 |