

## SP HP Chromatography Column, 5 mL

### SP HP 强阳离子交换预装柱, 5 mL

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
SP HP Chromatography Column, 5 mL(SP HP 强阳离子交换预装柱, 5 mL)	20465ES08	5 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。

SP 强阳离子交换层析填料 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-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>。

本品 SP 强阳离子交换预装柱是 SP 强阳离子交换层析填料 HP 的中压预装柱, 规格为 5 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	强阳离子
载量	~0.15-0.20 mmol H <sup>+</sup> /mL 基质
耐压	0.3 MPa
推荐使用流速	60~150cm/h
pH 范围	4-13 (长期) / 3-14 (短期)
储存缓冲液	20%乙醇, 0.2M NaAc
柱子尺寸	1.6×2.5 cm (5 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: 阳离子交换缓冲液

pH 范围	缓冲盐	浓度 (mM)	平衡离子	pKa(25°C)
1.4-2.4	Maleic acid	20	Na <sup>+</sup>	1.92
2.6-3.6	Methyl malonic acid	20	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	3.07
2.6-3.6	Citric acid	20	Na <sup>+</sup>	3.13
3.3-4.3	Lactic acid	50	Na <sup>+</sup>	3.86
3.3-4.3	Formic acid	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	3.75
3.7-4.7	Succinic acid	50	Na <sup>+</sup>	4.21

4.3-5.3	Acetic acid	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	4.75
5.1-6.1	Succinic acid	50	Na <sup>+</sup>	5.64
5.2-6.2	Methyl malonic acid	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	5.76
5.6-6.6	MES	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	6.27
6.7-7.7	Phosphate	50	Na <sup>+</sup>	7.20
7.0-8.0	HEPES	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	7.56
7.8-8.8	BICINE	50	Cl <sup>-</sup>	8.33

## 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。