

### 离子交换凝胶 CM 6FF 使用说明书

为确保产品的性能和无忧的操作，使用前请仔细阅读本手册，有任何疑问请咨询本公司售后技术支持或销售人员。

#### 1. 产品介绍

离子交换凝胶 CM 6FF 适用于分离纯化蛋白、多肽、核酸等所有带电的生物分子。

特点：

- a. 快流速，提高产能。
- b. 中等颗粒，良好分辨率。
- c. 兼容性好，适合各种规模生物分子的初期捕获或中度纯化。
- d. 纯化工艺灵活性高，可以和疏水层析组合使用。

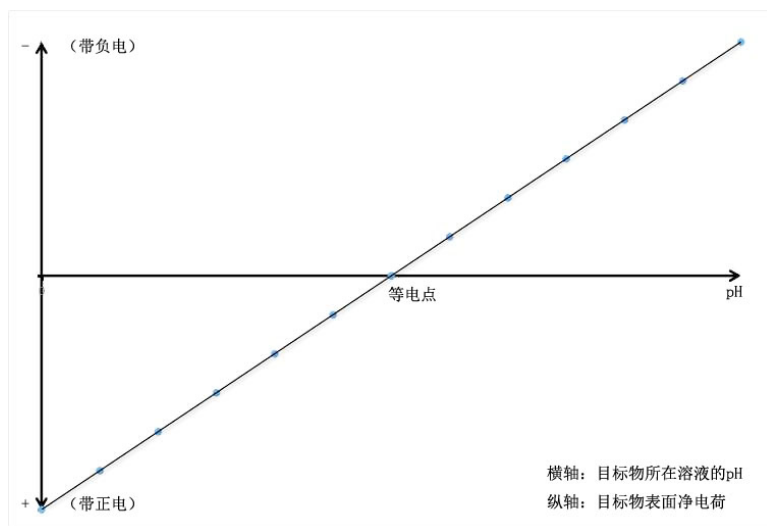
表1：性能参数

| 介质     | CM 6FF  |
|--------|---|
| 基质     | 高度交联 6%的琼脂糖   |
| 粒径范围   | 45-165 $\mu$ m  |
| 平均粒径   | 90 $\mu$ m  |
| 介质类型   | 弱阳离子交换  |
| 带电基团   | -O-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup>                               |
| 离子载量   | 90-130 $\mu$ mol H <sup>+</sup> /ml 介质                            |
| pH 稳定性 | 4-13 (长期) 2-14 (短期)   |
| 操作压力   | $\leq$ 0.3MPa   |
| 最大流速   | 700cm/h   |
| 化学稳定性  | 所有常用缓冲液、1.0M 氢氧化钠、8.0M 尿素、6.0M 盐酸胍、70%乙醇<br>避免使用氧化剂、阳离子去污剂、阳离子缓冲液 |
| 贮存溶液   | 20%乙醇   |
| 贮存温度   | 4-30 $^{\circ}$ C   |



### 2. 离子交换介质的选择

图1：离子交换介质的选择



说明：

- 当目标物所在溶液的pH < 目标物的等电点时，选择阳离子交换介质。
- 当目标物所在溶液的pH > 目标物的等电点时，选择阴离子交换介质。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH、盐的种类、盐的浓度必须能维持目标物的活性，避免目标物过酸/过碱水解、沉淀等情况。

### 3. 缓冲溶液的选择

表2：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 <sup>-</sup>                                    | 4.75      |
| 4.8-5.8   | Piperazine             | 20      | Cl <sup>-</sup> 或 HCOO <sup>-</sup>                | 5.33      |
| 6.0-7.0   | Bis-Tris               | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 6.48      |
| 6.2-7.2   | Bis-Tris propane       | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 6.65      |
| 7.3-8.3   | Triethanolamine        | 20      | Cl <sup>-</sup> 或 CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> | 7.76      |
| 7.6-8.6   | Tris                   | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 8.07      |
| 8.0-9.0   | N-Methyldiethanolamine | 20      | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>                      | 8.52      |
| 8.4-9.4   | Propane 1,3-Diamino    | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 8.88      |
| 8.6-9.6   | Bis-Tris propane       | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 9.10      |
| 9.0-10.0  | Ethanolamine           | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 9.50      |
| 9.2-10.2  | Piperazine             | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 9.73      |
| 10.0-11.0 | Propane 1,3-Diamino    | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 10.55     |
| 10.6-11.6 | Piperidine             | 20      | Cl <sup>-</sup>                                    | 11.12     |



表3：阳离子交换缓冲液

| pH 范围   | 缓冲盐                 | 浓度 (mM) | 平衡离子                              | pKa(25°C) |
|---------|---------------------|---------|-----------------------------------|-----------|
| 2.6-3.6 | Citric acid         | 20      | Na <sup>+</sup>                   | 3.13      |
| 3.3-4.3 | Lactic acid         | 50      | Na <sup>+</sup>                   | 3.86      |
| 4.3-5.3 | Acetic acid         | 50      | Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup> | 4.75      |
| 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      | Na <sup>+</sup>                   | 8.33      |

说明：

- 必须严格按照表2和表3的要求选择缓冲溶液的种类和浓度。
- 错误的缓冲液（种类和浓度）会干扰分离效果，具体体现在影响分离度、离子交换介质的载量、分离纯化过程中的pH波动等。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。
- 所有缓冲液试剂必须使用分析纯或者更高纯度的试剂。
- 在溶液配制后，须经过滤（粒径≤45μm用0.22μm过滤、粒径≤165μm用0.45μm过滤、粒径≤300μm用0.8μm过滤，避免堵塞离子交换介质）和脱气处理（影响分离效果）。

#### 4. 样品的制备

- 样品所在溶液盐的组分及pH必须和平衡液保持一致，可以通过用平衡液稀释或透析、超滤、G25进行缓冲液置换处理。
- 样品过滤（粒径≤45μm用0.22μm过滤、粒径≤165μm用0.45μm过滤、粒径≤300μm用0.8μm过滤，避免堵塞离子交换介质）。

备注：不建议直接用强酸或强碱调整样品溶液的pH，可能会出现目标物的降解和失活。

#### 5. 纯化方式的选择

- 用纯化水以150cm/h的流速清洗5-10CV。
- 用平衡液以150cm/h的流速平衡5-10CV，直至UV、pH、电导平稳。
- 将制备好的样品加载到层析柱中。
- 用平衡液清洗5-10CV，直至没有物质流穿为止。
- 线性梯度洗脱（优选）：线性梯度洗脱10-20CV(0%-50%洗脱液)。  
等度洗脱：在平衡液的基础上逐步提高盐浓度进行洗脱，每种盐浓度洗脱液洗脱5CV。
- 用100%洗脱液洗脱5CV。

备注：洗脱液=平衡液+1M NaCl，其它组分不变。



### 6. 清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性蛋白、脂类等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量、流动性、柱效等）。

建议每使用 5-10 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

- a. 用 5CV 2M NaCl 以 50cm/h 的流速冲洗（保证接触时间为 1-2h）。
- b. 用 5CV 1M NaOH 以 50cm/h 的流速冲洗（保证接触时间为 1-2h）。
- c. 用 5CV 2M NaCl 以 50cm/h 的流速冲洗（保证接触时间为 1-2h）。
- d. 用 5CV 纯化水以 50cm/h 的流速冲洗，直至 UV、电导平稳。
- e. 用 5CV 保存液以 50cm/h 的流速冲洗后保存。

备注：保存液为 20%乙醇或 0.1M NaOH。

### 7. 常见问题

表4：常见问题及解决方案

| 问题                    | 可能原因                | 解决方案                          |
|-----------------------|---------------------|-------------------------------|
| 纯化时目标物不与介质结合或结合量较低    | 1. 上样量过载            | 降低上样量                         |
|                       | 2. 上样速度过快           | 降低上样流速                        |
|                       | 3. 蛋白或脂类在介质中聚集      | 及时有效地清洗介质或更换新的介质              |
|                       | 4. 目标物不带电或与介质带同样的电荷 | 筛选合适的结合缓冲液                    |
|                       | 5. 样本或平衡液中盐浓度和pH不正确 | 检查样品和平衡液中的电导和pH               |
|                       | 6. 选用了错误的缓冲液        | 参考缓冲液选择表                      |
|                       | 7. 样品中加入了不合适的去污剂    | 检查样品中是否有不合适的去污剂               |
| 洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物 | 1. 目标物没有与介质结合或结合量较少 | 先确认目标物是否与介质结合                 |
|                       | 2. 洗脱条件不合适          | 洗脱液洗脱能力不够，加大盐浓度和调整洗脱液pH       |
|                       | 3. 洗脱时间不够           | 降低流速，延长洗脱液的保留时间               |
|                       | 4. 洗脱体积过小           | 加大洗脱体积                        |
|                       | 5. 目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀 | 检测目标物在洗脱液条件（盐浓度和pH）下的溶解度和稳定性。 |
| 目标物纯度较低               | 1. 样品没有经过前处理        | 样品上柱前必须要经过离心或过滤               |
|                       | 2. 样品粘度过高           | 用平衡液适当的稀释样品，降低粘度。             |
|                       | 3. 洗杂不彻底            | 加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致           |



|          |                       |                                |
|----------|-----------------------|--------------------------------|
|          | 4.杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀     | 及时有效地清洗介质                      |
|          | 5.洗脱条件不佳              | 优化洗脱条件                         |
|          | 6.目标物出现降解             | 检测目标物的稳定性                      |
|          | 7.柱料装填效果不佳            | 重新装填或购买                        |
|          | 8.分离柱顶部有较大储样体积        | 重新装柱或降低储样体积                    |
|          | 9.介质中有微生物生长           | 介质使用完后，请及时正确保存介质               |
| 介质载量下降   | 1.上样速度过快              | 降低上样流速                         |
|          | 2.蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降。 | 及时清洗介质                         |
|          | 3.使用次数过多，配基被氧化或脱落     | 及时清洗介质或更换新介质                   |
| 色谱峰上升缓慢  | 介质装填过紧                | 重新装柱                           |
| 色谱峰拖尾    | 介质装填太松                | 重新装柱                           |
| 柱床有裂缝或干涸 | 出现泄露或大体积气泡引入          | 检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱              |
| 液流较慢     | 1.蛋白或脂类聚集             | 及时清洗介质或滤膜                      |
|          | 2.蛋白沉淀在介质中            | 调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性和介质的结合效率 |
|          | 3.分离柱中微生物生长           | 所用试剂必须经过过滤和脱气；样品上柱前必须离心或过滤     |

### 8. 订购信息

表5：订购信息表

| 产品     | 规格(ml) | 货号       |
|--------|--------|----------|
| CM 6FF | 25     | HY1001-2 |
| CM 6FF | 100    | HY1001-2 |
| CM 6FF | 500    | HY1001-2 |
| CM 6FF | 1000   | HY1001-2 |

