



## CM-琼脂糖凝胶 FF

CM-琼脂糖凝胶 FF 是将羧甲基键合在高流速琼脂糖凝胶上形成的一种弱阳离子交换介质。广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的离子交换制备。

### 1 理化指标

项 目	指 标
离子交换基团	-O-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup>
基质	6% 交联琼脂糖
蛋白质吸附容量	60mg 溶菌酶/ml 介质
总离子交换量	0.07-0.10mmol/ml 介 质
粒径	45~165 μm
最大流速	300 cm/h
耐压	0.3 MPa
pH 值稳定性	2~14 (短时间) 4~13(长时间)
pH 工作范围	6~10
化学稳定性	在以下液体中稳定：所有常用的水相缓冲液；0.1mol/L 氢氧化钠；

\*检测条件：层析柱 16mm×100mm \*柱床高 5cm, 25℃, 流动相为 0.1mol/L NaCl。

### 2 贮存

产品应密封贮存在 4℃~25℃（保存溶液为 20% 乙醇），通风、干燥、清洁的地方，不能冷冻。用过的柱子贮存在 4℃（20% 乙醇）。

### 3 应用

本产品具有高化学稳定性、高流速、高载量、好的机械性能、可在位清洗、多次重复使用等特点，非特异性吸附低，回收率高，适用于工业规模生产，适用于在 pH 工作范围内可形成正离子的生物大分子的分离纯化，广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的离子交换制备。

### 4 使用过程

#### 4.1 装柱

(1) 让所有的材料和试剂均平衡至层析实验的温度。配制缓冲液，对所有的缓冲液进行脱气处理。

(2) 检查层析柱所有部件，特别是过滤网，密封圈，螺旋塞是否紧密，玻璃管是否干净和完整。

(3) 根据需要量取相应量的凝胶，用去离子水清洗掉 20%乙醇。



(4) 将柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位，务必使底端无气泡。

(5) 用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内，注意勿使产生气泡。打开柱子出液口，使凝胶在柱内自由沉降，连结好柱子顶端柱头。

(6) 打开蠕动泵，让缓冲液用使用时流速的 1.33 倍的流速流过，使柱床稳定（注意压力不要超过填料最大耐压）。

#### 4.2 平衡

让平衡缓冲液以一定流速流过柱子，直到流出液电导和 pH 不变。平衡液是低浓度的缓冲溶液，如 NaAC、PBS 等。

#### 4.3 上样

(1) 样品用平衡液配制，样品一定要离心或过滤后上样。盐浓度太大的样品需要处理后再配。

(2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上，用平衡液洗去杂质，再选择一种洗脱液洗下目标产品。

(3) 介质对样品组分吸附的程度取决于样品的带电性质、流动相的离子强度和 pH 值。盐浓度小，介质对样品组分吸附较牢。用 CM 介质时，推荐的操作 pH 值应在缓冲液 pKa 的 0.5 个单位内，并且和目标分子的等电点 (pI) 相差至少一个 pH 单位。

对于目标分子的吸附，选择具有适当 pH 的缓冲液是至关重要的，请参考下表：

Buffers for cation exchange chromatography

pH interval	Substance	Conc. (mM)	Counter-ion	pK <sub>a</sub> (25°C) <sup>1</sup>
1.4-2.4	Maleic acid	20	Na+	1.92
2.6-3.6	Methyl malonic acid	20	Na+ or Li+	3.07
2.6-3.6	Citric acid	20	Na+	3.13
3.3-4.3	Lactic acid	50	Na+	3.86
3.3-4.3	Formic acid	50	Na+ or Li+	3.75
3.7-4.7	Succinic acid	50	Na+	4.21
5.1-6.1	Succinic acid	50	Na+	5.64
4.3-5.3	Acetic acid	50	Na+ or Li+	4.75
5.2-6.2	Methyl malonic acid	50	Na+ or Li+	5.76
5.6-6.6	MES	50	Na+ or Li+	6.27
6.7-7.7	Phosphate	50	Na+	7.20
7.0-8.0	HEPES	50	Na+ or Li+	7.56
7.8-8.8	BICINE	50	Na+	8.33

<sup>1</sup> Handbook of chemistry and physics, 83<sup>rd</sup> edition, CRC, 2002-2003.

#### 4.4 洗脱

CM 介质可用增大盐浓度或增大 pH 值进行洗脱，常用增大盐浓度的办法洗脱。



#### 4.5 再生

一般用高盐浓度的缓冲液（含  $1\sim 2\text{mol/L NaCl}$ ）洗或增大 pH 洗 10 倍以上柱体积，接着用平衡液平衡柱子，可再次使用。

若有失活蛋白质或脂类物质在再生时洗不掉，可用在位清洗（CIP）除去。

#### 4.6 在位清洗

（1）对于以离子键结合上去的蛋白，可以用  $2\text{M NaCl}$  去除。

（2）对沉淀蛋白、以疏水性结合的蛋白或脂类，可用  $0.1\text{M NaOH}$  去除。清洗完毕后，用至少 10 倍纯水清洗柱子至中性。

#### 5 保存

使用完的填料，用纯水彻底冲洗，最后保存在  $4^{\circ}\text{C}$ （保存溶液为 20%乙醇），不能冷冻。

#### 6 注意事项

（1）上样之前，样品必须经过膜过滤及去除色素，否则杂质及色素会被吸附到填料上，影响填料的正常使用。所有的缓冲液均需要用  $0.45\mu\text{m}$  的过滤器过滤。

（2）在使用过程中，避免使用高浓度的强酸强碱，酸和碱的浓度应低于 0.1 摩尔。碱会使流速变慢。

（3）不同的样品，吸附和洗脱方法不相同，可以根据相关的文献进行。

（4）离子交换介质在选择层析柱时，避免使用细长柱，会增加实验操作压力。