

Q-琼脂糖凝胶 HP

Q-琼脂糖凝胶 HP 是将季铵基键合在琼脂糖微球上形成的一种强阴离子交换介质。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 | -CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃ |
| 基质 | 6% 交联琼脂糖 |
| 蛋白质吸附容量 | 60mgBSA/ml 介质 |
| 粒径 | 10~45μm |
| 最大流速 | 150 cm/h |
| 工作温度 | 4~40 C |
| 耐压 | 0.3MPa |
| pH 值稳定性 | 1~14 (短时间) ; 2~12(长时间) |
| pH 工作范围 | 2~12 |
| 化学稳定性 | 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°C , 流动相为 0.1mol/LNaCl。

2 贮存

产品应密封贮存在 4°C~25°C (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°C (20% 乙醇)。

3 应用

本产品仅用于科研

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 工作范围内可形成负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 使用方法

4.1 装柱

- (1) 所有实验材料均需平衡至色谱层析操作的温度；
- (2) 取所需量的凝胶，用去离子水清洗掉 20%乙醇，用平衡缓冲液配成匀浆。
- (3) 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。
- (4) 用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内，注意勿产生气泡。打开柱子出液口，使凝胶在柱内自由沉降，最后连结好柱子顶端柱头。
- (5) 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，到流出液电导和 pH 不变。平衡液是低浓度的缓冲溶液，如 Tris 、 PBS 等。

4.3 上样

- (1) 样品用平衡液配制，浑浊的样品要离心和过滤后上样。盐浓度太大的样品处理后再上样。
- (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。推荐的操作 pH 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。

Buffers for anion exchange chromatography

| pH interval | Substance | Conc. (mM) | Counter-ion | pK _a (25°C) ¹ |
|-------------|------------------------|------------------------------|---|-------------------------------------|
| 4.3–5.3 | N-Methylpiperazine | 20 | Cl ⁻ | 4.75 |
| 4.8–5.8 | Piperazine | 20 | Cl ⁻ or 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 |
| 8.6–9.6 | Bis-Tris propane | 20 | Cl ⁻ | 9.10 |
| 7.3–8.3 | Triethanolamine | 20 | Cl ⁻ or CH ₃ COO ⁻ | 7.76 |
| 7.6–8.6 | Tris | 20 | Cl ⁻ | 8.07 |
| 8.0–9.0 | N-Methyldiethanolamine | 20 | SO ₄ ²⁻ | 8.52 |
| 8.0–9.0 | N-Methyldiethanolamine | 50 | Cl ⁻ or CH ₃ COO ⁻ | 8.52 |
| 8.4–9.4 | Diethanolamine | 20 at pH 8.4 50 at pH 8.8 | Cl ⁻ | 8.88 |
| 8.4–9.4 | Propane 1,3-diamino | 20 | Cl ⁻ | 8.88 |
| 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 |

4.4. 洗脱

Q 琼脂糖凝胶 HP 介质可用增大盐浓度或减小 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 1~2mol/L NaCl）洗或减小 pH 洗 10 倍以上柱体积，接着用结合蛋白的平衡液洗到平衡，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 2M NaCl 去除。

(2) 对沉淀蛋白、对以疏水性结合的蛋白或脂类，可用 0.1M NaOH 去除。

(3) 清洗完毕后，用至少 10 倍缓冲液平衡柱子。

5 保存

使用完的填料，用纯水彻底冲洗，最后保存在 4℃（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 0.45um 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。