



# Uni<sup>®</sup>离子交换层析介质 产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0101

版本号：A0

	(Q)	适用	
--	-----	----	--

# Uni®离子交换介质

## 使用说明



图 1. Uni®离子交换层析介质产品图

## 离子交换层析产品简介

离子交换是根据分子表面电荷（种类、数目和分布）的差异实现对不同物质的分离，是生物大分子分离纯化最常用的方法。纳微科技提供的离子交换层析介质是以聚合物（聚丙烯酸酯或聚苯乙烯—二乙烯基苯共聚物）为基质，该基质经过表面亲水改性后再键合离子交换基团，同时具备对生物活性大分子良好的生物相容性和物化稳定性，极大地提高了纯化效率。纳微科技提供的 Uni®和 Uni®MSP 系列离子交换产品，适合小分子蛋白质、多肽、核酸和抗生素等分子量较小的生物分子的纯化。

表 1. 离子交换功能团分类及用途

类型	化学结构	主要特点	PKa 值
弱阳离子交换	-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup> (CM)	酸性较弱，适用于 pH>4 的流动相	4-6
强阳离子交换	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (SP)	酸性强，pH=2-12 均适用	<2
弱阴离子交换	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> H(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (DEAE)	碱性较弱，适用于 pH<9 的流动相	<9
强阴离子交换	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	碱性很强，pH=2-12 均	>12

续上表。

- 注：1. 流动相 pH 必须介于 pI 和 pKa 之间；  
 2. 流动相 pH 与待分离样品等电点至少差 1.0 pH；  
 3. pH<3.0 宜选用强阳交换介质，pH>10.0 宜选用强阴交换介质。

表 2. 离子交换层析介质基本属性一览表

产品系列	Uni®系列	Uni®MSP 系列
分离原理	离子交换	复合模式
基质	单分散聚丙烯酸酯	
动态结合载量	15-60 (mg/mL)	65-70 (mg/mL)
孔径	300、500 (Å)	300 (Å)
微球大小	30、50 (μm)	
纯化阶段	捕获、中度纯化	捕获、中度纯化
主要特点	亲水膜层表面改性，低非特异性吸附，小孔径分辨率高，对小分子有较高的载量	多功能离子交换介质，兼具疏水和离子交换作用，选择性和分辨率高，可高盐浓度电导上样
典型应用	适合小分子蛋白质，多肽，核酸，抗生素等分子量较小的生物分子纯化	耐受高盐，不同于 Uni® 系列选择性

表 3. Uni®和 Uni™MSP 系列产品技术参数一览表

产品名称	离子交换类型	粒径 (µm)	孔径 (Å)	最大耐压 (MPa)	建议线性流速 (cm/h)	pH 稳定范围 <sup>1</sup>	动态吸附载量 <sup>2</sup> (mg/mL gel)	全交换量 (meq/mL gel)
<b>Uni®系列：小分子纯化首选</b>								
UniCM®-30S	弱阳离子交换	36	500	1.0	50-300	2-12	~60	~0.23
Uni®SP-30S	强阳离子交换	36	500	1.0	50-300	2-12	~60	~0.23
UniDEAE®-30S	弱阴离子交换	36	500	1.0	50-300	2-12	~35	~0.20
UniQ®-30S	强阴离子交换	36	500	1.0	50-300	2-12	~35	~0.23
UniCM®-50XS	弱阳离子交换	55	300	0.8	100-500	2-12	~55	~0.23
Uni®SP-50XS	强阳离子交换	55	300	0.8	100-500	2-12	~55	~0.25
UniDEAE®-50XS	弱阴离子交换	55	300	0.8	100-500	2-12	~15	~0.20
UniQ®-50XS	强阴离子交换	55	300	0.8	100-500	2-12	~15	~0.25
<b>Uni®MSP 系列：疏水离子交换多模式作用，耐受高盐，不同于 Uni®系列的选择性</b>								
Uni®MSP-30XS	强阳离子交换	33	300	1.0	50-300	2-12	~70	~0.25
Uni®MSP-50XS	强阳离子交换	52	300	0.8	100-500	2-12	~65	~0.20
1: pH 稳定范围指使用、再生、在位清洗的 pH 区间； 2: 动态吸附载量阳离子使用溶菌酶 Lysozyme 测试，阴离子使用牛血清蛋白 (BSA)								

## 纯化操作步骤

### 层析柱装填

匀浆液的浓度是指层析介质沉降于恒定体积时的体积与匀浆液的总体积的比值。为了得到最佳的离子交换层析介质的装柱效果，我们推荐匀浆液浓度为50~70%。具体装柱方法如下：

1) 首先计算所装色谱柱的柱体积  $V_c^*$ ,  $V_c = h \times \pi r^2$

\* $V_c$ : 色谱柱柱体积;  $h$ : 色谱柱高度;  $r$ : 色谱柱半径。

2) 在原容器中轻轻搅动离子交换层析介质，使其完全分散在液体中形成匀浆液。量取所需原液的体积\*；

\*一般情况下，离子交换层析介质在压力作用下都会被压紧导致体积收缩，为了获得紧密的柱床，推荐量取填料的体积过量一些，一般为柱体积的 1.1 倍左右。

3) 添加 20 % 的乙醇，调整匀浆浓度为 50 %-70 %；

4) 将匀浆液一次倒入层析柱，按压缩系数 1.05-1.1 进行装柱。推荐先低流速恒流装柱，后大流速恒压装柱。

### 柱效评价

色谱柱装填好后，用流动相以 50~200 cm/h 流速平衡并进行柱效测试。具体测试参数详见表 4：

表 4. 离子交换层析色谱柱的柱效测试

样品	5% (v/v) 丙酮的水溶液/2 M NaCl
上样量	0.5-2 %柱体积
流动相	去离子水/0.5 M NaCl
线性流速	50~200 cm/h
检测	5% 丙酮上样: UV @280 nm 2M NaCl 上样: 电导检测仪

### 清洗

装好的色谱柱应使用至少 5 BV 的去离子水清洗。

### 平衡

用 5 BV 以上的平衡缓冲液平衡层析柱，至流出液电导率和 pH 不变（与平衡液一致），缓冲液如 Buffer A，如 20 mM PBS, pH=7.0，具体的缓冲体系应根据目标蛋白的稳定性和等电点、离子交换介质的种类进行筛选和优化。

### 上样

固体样品可用平衡液溶解配制；低浓度样品溶液可提前浓缩；高浓度样品溶液可用平衡液稀释。为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或膜过滤处理。上样量根据介质的载量和样品中目标蛋白的含量计算，上样前确保载量缓冲液应尽可能与平衡液一致。

### 洗脱

上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线稳定，可以根据实际情况采取降低盐浓度或改变流动相 pH 的方法依次洗脱吸附于层析介质上的样品。

### 再生

每次层析之后可用 0.5-2 M NaCl 清洗层析柱，除去强结合于层析介质上的蛋白。

### 在位清洗

为了保持层析柱的性能，若有蛋白质或其他杂质在再生过程中未能有效去除，可执行在位清洗步骤，在位清洗时，也可采用反向冲洗的方法，具体操作步骤如下：

(1) 对于通过离子键结合过强的蛋白，可用 3 BV 以上的 2 M NaCl 清洗，并用 3 BV 以上的去离子水清洗。

(2) 对沉淀蛋白、以疏水性结合的蛋白或脂蛋白，可用 0.2~0.5 M NaOH 清洗（与层析介质接触时间 1~2 小时），并用 5 BV 以上平衡液和 3 BV 以上的去离子水清洗。

(3) 对强疏水性结合的蛋白、脂蛋白和脂类物质，可用 5 BV 以上的 50%乙醇或 30%异丙醇清洗（与层析介质接触时间 0.5-1 小时），并用 5 BV 以上的去离子水清洗。也可用含非离子表面活性剂的碱性或酸性溶液清洗，如用含 0.1~0.5%的 Triton X-100 和 0.1 M 乙酸清洗 1-2 小时，并用 5 BV 以上的 50%乙醇冲洗去除污剂，然后用 5 BV 以上的纯水冲洗（使用高浓度的有机溶剂时，为了避免产生气泡，应采用逐步增加有机溶剂浓度的方法）。

## 储存

未使用的层析介质需密封保存在 4~25 °C 的 20%乙醇溶液中；已经使用过的层析介质再生和清洗干净后密封保存在 20%乙醇中。

## 故障排除

如果您在使用 Uni 离子交换产品遇到任何问题，请参考下表进行解决或联系我们。

### 1、柱压升高

原因分析	建议措施
流速过高	降低流速
泵和收集器之间的阀门未打开	打开出口
仪器的在线过滤器堵塞	去除杂质并清洗，或者替换，在使用前对样品和缓冲液用 0.45 μm 或 0.2 μm 进行过滤

续上表。

柱前堵塞	使用 20 BV 流动相反冲色谱柱
样品在柱子上发生沉淀	在位清洗，调节样品溶剂量
样品较脏，或一些吸附作用较强的物质留在填料上	执行在位清洗操作（参考再生条件）
柱床被压缩	重新填装柱子
色谱柱使用时间较长	更换色谱柱或更换色谱填料

### 2、样品吸附不够充分

原因分析	建议措施
样品溶液中离子强度太高	降低样品溶液中的离子强度，如可采用稀释或脱盐等手段
样品的 pH 不合适	调节 pH 增加结合强度

### 3、样品在洗脱过程中不被洗脱

原因分析	建议措施
洗脱液的离子强度过低	增加洗脱液的浓度
洗脱液的洗脱能力过低	更换洗脱能力更强的洗脱液
洗脱液的 pH 不合适	调整洗脱液的 pH
色谱柱有残留疏水性较强的杂质	执行在位清洗操作（参考再生条件）

### 4、分辨率降低

原因分析	建议措施
不合适的洗脱条件，如梯度过陡或流速过高	改变洗脱条件，采用较缓的梯度洗脱或等度洗脱，降低流速
柱子未装填好	重新装柱
在柱子顶端或柱后有大部分的混合空间	加高填料的上表面或减少柱子后体积
柱子过载	清洗并重新平衡色谱柱，降低上样量

续上表。

粒径较大	更换同种类型粒径更小的填料
选择性差	更换其他类型填料

### 5、进样若干次后对样品的吸附能力降低

原因分析	建议措施
样品中的杂质结合在介质上，干扰了正常的结合	执行在位清洗操作 (参考再生条件)

### 6、使用中柱床出现裂痕

原因分析	建议措施
溶胀未充分消除	用 0.5 M NaCl 混合均匀，充分平衡
溶液中有气泡	减压过滤除气
外部空气进入系统	加入更多缓冲液，将气体充分赶出

### 7、基线漂移

原因分析	建议措施
色谱柱未平衡好	增加平衡时间
洗脱液 A, B 在同一紫外波长下吸收系数不同	使用不同的波长或走空白梯度
洗脱液不纯	使用高纯度的色谱纯级试剂

### 8、出现不明杂峰

原因分析	建议措施
前一个样品的不完全洗脱	再生
洗脱液不纯	运行空白梯度对照或使用高纯度的色谱纯级试剂
痕量离子性杂质结合在色谱柱上，在平衡和上样过程中被浓缩，洗脱时出峰	清洗色谱柱

## 订货信息

产品名称	包装规格	存货编码
UniCM®-30S	30 mL	04021-030050-2030
	100 mL	04021-030050-2100
	500 mL	04021-030050-2500
	1 L	04021-030050-1001
	5 L	04021-030050-1005
	10 L	04021-030050-1010
	50 L	04021-030050-1050
Uni®SP-30S	30 mL	04022-030050-2030
	100 mL	04022-030050-2100
	500 mL	04022-030050-2500
	1 L	04022-030050-1001
	5 L	04022-030050-1005
	10 L	04022-030050-1010
	50 L	04022-030050-1050
UniDEAE®-30S	30 mL	04023-030050-2030
	100 mL	04023-030050-2100
	500 mL	04023-030050-2500
	1 L	04023-030050-1001
	5 L	04023-030050-1005
	10 L	04023-030050-1010
	50 L	04023-030050-1050
UniQ®-30S	30 mL	04024-030050-2030
	100 mL	04024-030050-2100
	500 mL	04024-030050-2500

续上表。

	1 L	04024-030050-1001
	5 L	04024-030050-1005
	10 L	04024-030050-1010
	50 L	04024-030050-1050
	100 L	04024-030050-1100
	UniQ®-50XS	30 mL
100 mL		04024-050030-2100
500 mL		04024-050030-2500
1 L		04024-050030-1001
5 L		04024-050030-1005
10 L		04024-050030-1010
50 L		04024-050030-1050
100 L		04024-050030-1100
UniCM®-50XS	30 mL	04021-050030-2030
	100 mL	04021-050030-2100
	500 mL	04021-050030-2500
	1 L	04021-050030-1001
	5 L	04021-050030-1005
	10 L	04021-050030-1010
UniCM®-50XS	50 L	04021-050030-1050
	100 L	04021-050030-1100
	1 L	04021-050030-1001
	10 L	04021-050030-1010
	100 L	04021-050030-1100
Uni®SP-50XS	30 mL	04022-050030-2030
	100 mL	04022-050030-2100
	1 L	04022-050030-1001
	10 L	04022-050030-1010
	100 L	04022-050030-1100

UniDEAE®-50XS	30 mL	04023-050030-2030
	100 mL	04023-050030-2100
	1 L	04023-050030-1001
	10 L	04023-050030-1010
	100 L	04023-050030-1100
Uni®MSP-30XS	30 mL	04012-030030-2030
	100 mL	04012-030030-2100
	1 L	04012-030030-1001
	10 L	04012-030030-1010
	100 L	04012-030030-1100
Uni®MSP-50XS	30 mL	04012-050030-2030
	100 mL	04012-050030-2100
	1 L	04012-050030-1001
	10 L	04012-050030-1010
	100 L	04012-050030-1100

注：纳微科技还可提供 7.7 mm × 22 mm, 16 mm × 25 mm, 7.7 mm × 100 mm 的预装柱，更多型号或定制，请联系我们。

苏州纳微科技股份有限公司

全国咨询热线：400-828-1622

中文网站：www.nanomicrotech.com

英文网站：www.nanomicro-technology.com

邮箱：info@nanomicrotech.com

总部地址：苏州工业园区百川街 2 号 215123



2022 年版