HiPur CM 6FF HiPur SP 6FF HiPur DEAE 6FF HiPur Q 6FF

目录

1. 产品介绍......1
2. 纯化流程......2
3. 填料清洗与保存......3
4. 问题及解决方案......3
5. 订购信息及相关产品......3

1. 产品介绍

离子交换填料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。主要包括强酸性阳离子交换填料、弱酸性阳离子交换填料、强碱性阴离子交换填料和弱碱性阴离子交换填料四种。本产品四种离子交换填料均以高交联的 6%琼脂糖为介质，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。

HiPur CM 6FF、**HiPur SP 6FF**、**HiPur DEAE 6FF** 和 **HiPur Q 6FF** 是一种中压预装柱，分别填装 20 ml 的 **CM Beads 6FF**、**SP Beads 6FF**、**DEAE Beads 6FF**、**Q Beads 6FF** 介质。柱管由生物相容性聚丙烯制成，不与生物分子相互作用。柱管两头都有堵头，防止保护液的泄露。柱体标签上的箭头表示推荐的流向。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。

CM Beads 6FF

CM Beads 6FF 是一种弱阳离子交换填料，离子交换基团为-O-CH_2COO^-， 性能见表 1。

表 1. **HiPur CM 6FF** 产品性能

项目	性能
规格	20 ml
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
离子交换类型	弱阳离子
离子载量	约 0.09-0.13 mmol H^+/ml 介质
粒径	45-165 μm
建议流速	300-600 cm/h
pH 稳定范围	4-13
柱尺寸（内径×高度）	1.6×10 cm
储存缓冲液	20%乙醇
储存温度	2-8℃

SP Beads 6FF

SP Beads 6FF 是一种强阳离子交换填料，离子交换基团-O-$CH_2CH_2CH_2SO_3^-$，性能见表 2。

表 2. **HiPur SP 6FF** 产品性能

项目	性能
规格	20 ml
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
离子交换类型	强阳离子
离子载量	约 0.18-0.25 mmol H^+/ml 介质
粒径	45-165 μm
建议流速	400-700 cm/h
pH 稳定范围	4-13
柱尺寸（内径×高度）	1.6×10 cm
储存缓冲液	20%乙醇，0.2 M 醋酸钠
储存温度	2-8℃

DEAE Beads 6FF

DEAE Beads 6FF 是一种弱阴离子交换填料，离子交换基团，$-O-CH_2CH_2-N^+(C_2H_5)_2H$，具体性能见表 3。

表 3. **HiPur DEAE 6FF** 产品性能

项目	性能
规格	20 ml
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
离子交换类型	弱阴离子
离子载量	约 0.11-0.16 mmol Cl^-/ml 介质
粒径	45-165 μm
建议流速	300-600 cm/h
pH 稳定范围	2-12
柱尺寸（内径×高度）	1.6×10 cm
储存缓冲液	20%乙醇
储存温度	2-8℃

Q Beads 6FF

Q Beads 6FF 是一种强阴离子交换填料，离子交换基团如下，具体性能见表 4。$-O-CH_2CHOHCH_2OCH_2CHOHCH_2N^+(CH_3)_3$

表 4. HiPur **Q 6FF** 产品性能

项目	性能
规格	20 ml
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
离子交换类型	强阴离子
离子载量	约 0.18-0.25 mmol Cl^-/ml 介质
粒径	45-165 μm
建议流速	400-700 cm/h
pH 稳定范围	2-12
柱尺寸（内径×高度）	1.6×10 cm
储存缓冲液	20%乙醇
储存温度	2-8℃

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

所使用的平衡液和洗脱液，根据不同离子交换填料自行选择。基本原则是低盐上样，高盐洗脱。

2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 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。

2.3 样品纯化

HiPur CM 6FF 是一种离子交换介质的预装柱产品，可以用各种常规的中低压色谱系统，以ÄKTA 仪器使用为例介绍 **HiPur CM 6FF** 使用方法。

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。再打开下口，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 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。

4）利用泵或样品环上样。

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）用洗杂液冲洗柱子，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），洗杂流速与平衡时一致即可。

6）用洗脱液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。梯度洗脱可以用 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。

2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 填料清洗与保存

3.1 常规清洗

离子交换填料每次使用后可以用 1 M NaCl 甚至更高离子强度溶液或高 pH 溶液清洗，然后用至少 5 倍柱体积的平衡液进行平衡，至离子强度或 pH 值稳定。

3.2 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。

去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法

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，pH 7.4 清洗。

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，pH 7.4 清洗。

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。

3.3 填料保存

使用过的预装柱，先用纯水冲洗 5 倍柱体积，再用 20%乙醇冲洗 2 倍柱体积以上，然后将预装柱置于 2-8℃保存，建议每间隔 1-2 个月用 20%乙醇冲洗 2 倍柱体积以上置换旧保护液。

4. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	按照第3部分进行填料清洗。
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜（0.22或0.45 μm）过滤，或者离心去除。
洗脱样品较杂	填料重复多次使用	按照第3部分进行填料清洗或更换新填料
	洗杂不充分	增加洗杂液体积，确保填料充分平衡/洗杂
	样品带电性能相似	优化洗脱条件

5. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
HiPur Q 6FF	SI001C20	1×20 ml
HiPur SP 6FF	SI003C20	1×20 ml
HiPur DEAE 6FF	SI005C20	1×20 ml
HiPur CM 6FF	SI007C20	1×20 ml
HiSelect Q 6FF	SI001C47	1×4.7 ml
HiSelect SP 6FF	SI003C47	1×4.7 ml
HiSelect DEAE 6FF	SI005C47	1×4.7 ml
HiSelect CM 6FF	SI007C47	1×4.7 ml