

CM-琼脂糖凝胶 CL-6B

CM-琼脂糖凝胶 CL-6B 是将羧甲基键合在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 ₂ COO ⁻
基质	6% 交联琼脂糖
蛋白质吸附容量 (最大)	Ribonuclease (MW 13700) 95 mg/ml
总离子交换量	0.06-0.10mmol/ml 介 质
粒径	45~165 μm
最高流速	150 cm/h
耐压	0.2 MPa
pH 值稳定性	2~14 (短时间, 在位清洗) 4~13(长时间)
pH 工作范围	6~12
化学稳定性	常用的水相缓冲液: 0.1mol/L 氢氧化钠等

*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 _a (25°C) ¹
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

¹ Handbook of chemistry and physics, 83rd 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 1~2mol/L NaCl）洗或增大 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、以疏水性结合的蛋白或脂类，可用 0.1 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℃（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。

7 产品订购相关信息

产品货号	产品名称	纯度/规格	包装
CS20261-25ml	CM-琼脂糖凝胶CL-6B	国产	25ml
CS20261-100ml	CM-琼脂糖凝胶CL-6B	国产	100ml
CS20261-500ml	CM-琼脂糖凝胶CL-6B	国产	500ml

酷来博所有产品仅用作科学研究，不得用于其他用途！