



Capto Q 预装柱 (1 mL, 5 mL, 20mL)

Capto Q 预装柱以便捷的形式实现了快速、可重现且简便的分离。该柱与诸如 ÄKTA系统之类的液相色谱系统配合使用能达到最佳效果，但也能够通过注射器或蠕动泵进行操作。

目录

- 一. 描述:
- 二. 纯化操作
- 三. 优化:
- 四. 清洁
- 五. 存储:
- 六. 更多信息
- 七. 订购信息

一、描述

预装柱特点

预装柱柱体由生物相容性聚丙烯制成，不会与生物分子发生相互作用。滤膜孔径经过优化，可直接在柱上加载超声波处理的未澄清裂解液，而不会造成背压问题或介质泄漏。

柱体配有入口的密封件和出口的快拆端。表1列出了预装柱的特性。

注意：预装柱不能打开或重新填充。

注意：确保适配器紧固以防止泄漏。

表 1 预装柱的特点。

柱子体积	1 mL, 5 mL, 20mL
柱子尺寸	7.8 × 25 mm (1 ml); 15.8× 27 mm (5 ml); 15.8 × 100 mm (20 ml)
最大流速	1 mL: 4 mL/min, 5 mL: 20 mL/min, 20 mL: 4 mL/min,
推荐流速	1 mL: 1 mL/min, 5 mL: 5 mL/min, 20 mL: 1 mL/min,



最大背压	3 bar (0.3 MPa)
------	-----------------

填料特性

Capto Q是高容量、强阴离子交换填料。Q配体与经过化学改性的高流速琼脂基质结合。高流速琼脂基质提供了颗粒的刚性，同时不会影响孔径。此外，蔗糖表面扩展剂覆盖了琼脂基质。这种组合使得在高流速下能够实现快速的质量传递，从而使Capto Q在高流速下具有高动态结合容量。这使得填料适用于大规模工业应用。

表2 Capto Q的特点

基质	具有葡聚糖表面扩展剂的高流量琼脂糖 (Capto)
离子交换型	强阴离子Q
带电基团	-N ⁺ (CH ₃) ₃
总离子容量	0.16 - 0.22 mmol Cl ⁻ /ml 填料
颗粒大小 ¹	90 μm (d _{50v})
流速	在温度为20°C、柱高1米、柱床高度20厘米的条件下，使用与水在3 bar (0.3 MPa) 以下时粘度相同的缓冲液，流速可达700厘米/小时。
动态结合载量 ²	> 100 mg BSA/ml填料 > 150 mg ovalbumin/ml 填料
pH工作范围	2 - 12
pH 稳定性 ³	短期：2 - 14 长期：2 - 12
工作温度	4°C - 30°C
化学稳定性	所有常用的水缓冲液，1 M醋酸，1 M NaOH ⁴ ，8 M尿素，6 M盐酸胍，30%异丙醇，70%乙醇
避免事项	氧化剂、阴离子洗涤剂
储存	20%

¹ d_{50v}是累积体积分布中的中等颗粒大小。

² 在Tricorn™ 5/100柱中，以1分钟的停留时间、600 cm/h的流速，在50 mM Tris-HCl缓冲液 (pH 8.0) 中测量的10%穿透时的动态结合能力。



3 短期pH：可以在不影响功能的情况下进行清洁或消毒的pH范围。长期pH：可以在不影响功能的情况下操作的pH范围。

4 在40°C下存放1周后，在1 M NaOH中动态结合能力和碳含量没有显著变化。

二、纯化操作

样品制备

在将样品应用于色谱柱之前，可以将其离心或通过0.45微米滤膜过滤。

无需澄清的样本制备方法

以下的样本制备方法旨在使样本充分均质化，可以直接应用于色谱柱，无需事先澄清。本手册中的方法在我们自己的实验室中已成功使用，但其他已建立的方法也可能有效。

1. 细胞固体的稀释：每克细胞固体加入5-10毫升起始缓冲液。
2. 酶解法：0.2 mg/ml 溶菌酶，20 µg/ml DNA酶，1 mM MgCl₂，1 mM PMSF（最终浓度）。将混合物在室温或4°C下搅拌30分钟，具体温度取决于目标蛋白的敏感性。
3. 机械破碎：在冰上超声约10分钟，用法国压榨机或其他均质器或冷冻/解冻法进行均质，至少重复五次。

机械破碎时间可能需要比标准方案延长，以确保为样品装载提供优化的裂解物（以防止柱子堵塞和背压问题）。不同的蛋白质对细胞破碎的敏感度不同，必须小心避免样品起泡和过热。

4. 调节裂解液的pH值。pH值应至少比目标蛋白的等电点低0.5个单位（阳离子交换填料）或高0.5个单位（阴离子交换剂）。不要使用强酸或强碱进行pH调节（以防止沉淀）。应在制备后立即将未澄清的裂解液直接应用于柱上。

注意：如果未澄清的细胞裂解液在使用前被冷冻，则可能会增加沉淀和聚集的风险。然后，对裂解液进行新的超声处理可以防止在将裂解液装载到柱上时出现增加的背压问题。

选择起始缓冲液和洗脱缓冲液

洗脱缓冲液通常与起始缓冲液具有相同的组成和pH值，但含有更多的盐，通常是氯化钠。使用阴离子交换剂时，起始缓冲液的pH值应至少比目标分子的等电点高0.5-1 pH单位，使用阳离子交换剂时，起始缓冲液的pH值应至少比目标分子的等电点低0.5-1 pH单位。

缓冲物种和缓冲浓度对于可重复性和稳健的方法至关重要。表3和表4分别列出了阴离子交换剂和阳离子交换剂的适用缓冲液以及建议的起始浓度。缓冲液浓度应至少为10 mM，只有极少数情况下超过100 mM。



对于未知电荷特性的样品，可以尝试以下方法：

阴离子交换 (Q柱和DEAE柱)

起始缓冲液：20 mM Tris-HCl, pH 8.0

洗脱缓冲液：20 mM Tris-HCl, 1 M NaCl, pH 8.0

阳离子交换 (S柱)

起始缓冲液：50 mM 乙酸钠, pH 5.0

洗脱缓冲液：50 mM 乙酸钠, 1 M NaCl, pH 5.0或

起始缓冲液：50 mM MES, pH 6.0

洗脱缓冲液：50 mM MES, 1 M NaCl, pH 6.0

表3 阴离子交换色谱缓冲液。

pH值区间	试剂	浓度(mM)	反离子	pKa (24°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	Cl ⁻	8.88
50 at pH 8.8				
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

¹ Handbook of chemistry and physics, 83rd edition, CRC, 2002–2003.



表4 阳离子交换色谱缓冲液。

pH值区间	试剂	浓度(mM)	反离子	pKa (24°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.

第一次使用或长期储存后

流速：1 ml/min (1 ml预装柱) ， 5 ml/min (5 ml预装柱) 。

1. 拔掉密封塞，将柱子通过一滴一滴的连接方式与系统（或注射器）连接，以避免将空气引入柱子中。
2. 将柱出口处的断开端去掉，用1柱体积的蒸馏水清洗。这一步骤可确保去除乙醇，避免暴露于乙醇时出现盐类沉淀。如果沉淀不太可能出现，则可以省略此步骤。
3. 用5倍起始缓冲液冲洗。
4. 用5倍柱体积的洗脱缓冲液洗涤。
5. 用5倍起始缓冲液冲洗。

梯度洗脱分离

在方法开发或处理未知样品时，应始终使用线性离子强度梯度。由合适的色谱系统生成的线性离子强度梯度容易准备且非常可重复。然后可以以此为基础优化分离效果。

流速：1 ml/min (1 ml预装柱) ， 5 ml/min (5 ml预装柱) 。

在分离过程中收集各部分样品。

1. 使用Q柱时，至少用5个柱体积的起始缓冲液平衡柱子，至少用10个柱体积的起始缓冲液平衡柱子，或者直到紫外基线、洗脱液pH值和电导率稳定为止。



2. 将样品调整至选定的起始pH值和电导率，然后将其应用于色谱柱。
3. 用5-10倍柱体积的启动缓冲液清洗或直到流出液中不再有物质出现。
4. 采用梯度体积（10-20个柱体积）进行洗脱，并逐步增加盐浓度至0.5 M NaCl（50%洗脱缓冲液）。
5. 用5倍柱体积的1M NaCl（100%洗脱缓冲液）洗脱任何仍与离子结合的物质。
6. 重新平衡至起始缓冲液的5-10柱体积或直至UV基线、洗脱液pH值和电导率达到所需值。

选择性筛选

预装柱特别适用于筛选不同离子交换介质。

三、优化

筛选最佳上样条件

通过测试目标蛋白在已知稳定的pH范围内的一系列值来寻找最佳上样条件。如果已知目标蛋白的等电点，则从等电点附近的较窄pH范围开始，例如，在等电点左右0.5-1个pH单位范围内。在某些情况下，在寻找最佳装载条件时，样品的电导率与pH同样重要。因此，我们还建议通过在2-15 mS/cm的范围内改变样品的电导率来筛选最佳离子强度。

流速：1 ml/min（1 ml预装柱），5 ml/min（5 ml预装柱）。

在分离过程中收集各部分样品。

1. 决定要研究的pH值和电导率，并根据此准备样品。
2. 开始缓冲液准备：准备一系列pH值在5-9范围内（Q柱和DEAE柱）或4-8范围内（S柱）的缓冲液，并且每个缓冲液之间的pH单位间隔为0.5-1。

请参见表3和表4以获取推荐的缓冲液。如果需要考虑缓冲液的电导率，可以通过增加缓冲液浓度或添加氯化钠来进行调整。

3. 洗脱缓冲液：设置另一系列缓冲液，其pH值与前一组相同，但包含1 M NaCl。
4. 至少用5柱体积的起始缓冲液平衡Q柱和S柱，至少用10柱体积的起始缓冲液平衡DEAE柱或直到UV基线、洗脱液pH和电导率稳定为止。
5. 施加已知量的样品。
6. 至少用5倍柱体积的启动缓冲液清洗，或者直到流出液中不再有物质出现为止。
7. 用洗脱缓冲液（通常需要3-5个柱体积，但具体所需体积可能取决于实验条件）洗脱结合的材料。



8. 对所有组分（例如通过活性分析）进行分析，确定纯度和吸附在柱子上的量。
9. 对下一个缓冲液的pH值重复步骤4-8。
10. 选择pH值和电导率：最合适的缓冲液应能够使目标蛋白结合，并尽可能高纯度地回收蛋白。

注意：对于S柱和DEAE柱，某些蛋白的动态结合能力在低温下会降低。通过对缓冲液浓度进行筛选，可以在给定温度下获得最优的动态结合能力。

分步洗脱分离

通过转至分步洗脱，可以减少分离时间和缓冲液消耗。

流速：1 ml/min（1 ml预装柱），5 ml/min（5 ml预装柱）。

在分离过程中收集各部分分。

1. 使用Q柱、S柱或DEAE柱色谱柱时，至少用5个柱体积的起始缓冲液平衡柱子，至少用10个柱体积的起始缓冲液平衡柱子，或者直到紫外基线、洗脱液pH值和电导率稳定为止。
2. 将样品调整至选定的起始pH值和电导率，然后将其应用于色谱柱。
3. 用5-10倍柱体积的启动缓冲液清洗或直到流出液中不再有物质出现。
4. 用包含选择浓度氯化钠的启动缓冲液洗涤5个柱体积。
5. 在更高的NaCl浓度下重复步骤4，直到目标蛋白被洗脱出来为止。
6. 用5倍柱体积的高盐溶液（起始缓冲液中的1M NaCl）洗涤以洗脱任何仍与离子结合的物质。
7. 重新平衡5-10个柱体积的起始缓冲液或直到UV基线、洗脱液pH值和电导率达到所需值。

在高盐洗涤和重新平衡步骤中使用较高的流速可以节省时间。不要超过柱子的最大推荐流速和背压。

四、清洁

正确的样品和缓冲液准备，包括每次分离后进行高盐洗涤（1-2 M NaCl），可以保持柱子处于良好状态。然而，性能下降、背压增加或堵塞表明介质需要清洗。

以下是去除常见污染物的步骤：

流速：1 ml/min（1 ml预装柱），5 ml/min（5 ml预装柱）。

1. 至少用2倍柱体积2M氯化钠溶液洗涤。
2. 至少用4倍柱体积1M浓度的氢氧化钠溶液清洗。



3. 至少用2倍柱体积的2M氯化钠溶液清洗。
4. 至少用2倍柱体积的蒸馏水冲洗。
5. 使用5柱体积的Q柱和S柱的启动缓冲液，至少10柱体积的DEAE柱的启动缓冲液，或者直到淋洗液pH值和电导率达到所需值为止。

注意：对于某些污染物，对于DEAE柱的CIP程序可能需要比Q柱和S柱更为严格。

五、 储存

用2倍柱体积的蒸馏水清洗，然后用2倍柱体积的20%乙醇（Q柱和DEAE柱）或20%乙醇（含有0.2 M乙酸钠，S柱）清洗。储存温度为4°C至30°C。不要冷冻。确保柱子密封良好以避免干燥。

六、 更多信息

更多有关优化、故障排除、清洗等其他主题的信息可以在[公众号：千株松生物](#)上查找。

七、 订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
Capto Q预装柱	1 ml, 5ml, 20ml	QS01048A
SP 预装柱		QS01047A
Ni NTA Agarose Beads 6FF预装柱		QS01002A
Ni TED Agarose Beads 6FF预装柱		QS01003A
Glutathione Agarose Beads 4FF预装柱		QS01012A
rProtein A Agarose 4FF预装柱		QS01008A
rProtein G Agarose 4FF预装柱		QS01009A