



CM琼脂糖微球6FF

CM Agarose Beads 6FF

产品手册

货号: QS01070

版本: V1.0

—— 弱阳离子交换层析介质 ——



一、产品概述

CM琼脂糖微球6FF (CM Agarose Beads 6FF) 是将羧甲基 (Carboxymethyl, CM) 通过稳定的醚键共价偶联于6%高度交联琼脂糖微球 (6FF) 表面而制成的一种弱阳离子交换层析介质。羧甲基为弱酸性功能基团 (pK_a 约4.5)，在高于其 pK_a 的pH条件下解离为带负电荷的羧酸根 ($-O-CH_2-COO^-$)，可与样品中带正电荷的生物大分子发生可逆的静电结合；随后通过提高洗脱液的盐浓度或改变pH，使结合的目标分子按电荷差异依次解吸，从而实现分离纯化。

本产品以6%高度交联琼脂糖微球为基质，网架结构疏松、亲水性好、非特异性吸附低，并具有良好的机械强度和传质性能，支持高流速操作；基质化学稳定性好，可耐受1 M NaOH在位清洗 (CIP)。

本产品适用于带正电荷的重组蛋白、酶、抗体、多肽、核酸及多糖等生物分子的分离纯化，既可采用非装柱的离心式批纯化操作，也可装柱或制成预装柱，配合AKTA等中、低压层析设备使用，覆盖实验室小规模制备到生物制药工业化规模生产。

二、产品特点

2.1 高离子容量与蛋白载量

羧甲基配基密度高，离子交换容量达0.1 mmol H^+ /mL沉降介质，对溶菌酶等带正电荷蛋白的结合容量不低于50 mg/mL沉降介质，可高效处理高载量样品。

2.2 高流速、高通量

基于高度交联的6%琼脂糖6FF基质，机械强度高、柱床稳定，推荐工作流速300~600 cm/h，最大流速可达700 cm/h，最大操作压力0.3 MPa，适合规模化、高通量柱层析工艺。

2.3 选择性温和、条件易优化

CM为弱酸性阳离子基团，其解离程度随操作pH灵敏变化，可通过pH与盐浓度的细微调整改变保留行为，获得不同于强阳离子交换介质的选择性，适用于分辨率要求高的精细分离。

2.4 化学稳定性好、支持碱液在位清洗

介质可耐受所有常用水相缓冲液，并对1 M NaOH、8 M尿素、6 M盐酸胍、1 M醋



酸、75%乙醇和30%异丙醇保持稳定，可使用1 M NaOH进行在位清洗与微生物控制，便于工艺重复使用和合规验证。

2.5 非特异性吸附低、回收率高

琼脂糖骨架高度亲水、生物相容性好，对目标蛋白的非特异性吸附低，洗脱条件温和，可较好保持生物大分子的天然构象与活性，目标产物回收率和纯度高。

2.6 操作方式灵活

既支持装柱后的结合-洗脱（Bind & Elute）模式，也支持流穿（Flow-through）模式；既可装柱用于连续层析，也可直接在离心管中进行批式孵育纯化，满足不同样品规模与操作习惯。

三、技术参数

表1 CM琼脂糖微球6FF技术参数

参数项目	技术指标
基质	6%高度交联琼脂糖微球
功能配基	羧甲基（Carboxymethyl, $-O-CH_2-COO^-$ ）
蛋白结合容量	≥ 50 mg溶菌酶/mL沉降介质
粒径范围	45 ~ 165 μm
工作pH范围	5 ~ 12
pH稳定性	2 ~ 14（含短时在位清洗）
最大操作压力	0.3 MPa
工作温度	4 ~ 30°C
高压灭菌	121°C, pH 7, 30 min
化学相容性	常用水相缓冲液；1 M NaOH；8 M尿素；6 M盐酸胍；1 M醋酸；75%乙醇；30%异丙醇
不相容物质	氧化剂、阴离子型去垢剂（如SDS）
储存缓冲液	20%乙醇水溶液
悬液浓度	50%（沉降介质占悬液总体积的50%）
储存温度	2 ~ 8°C
保质期	密封保存条件下24个月

四、储存条件与稳定性

4.1 储存条件

产品应于2~8°C冷藏保存，严禁冷冻，冷冻会导致琼脂糖微球结构破坏、柱床性能



不可逆下降。储存过程中应保持介质完全浸没于20%乙醇储存液中，避免干涸和乙醇挥发；必要时每3个月更换一次新鲜储存液。密封保存条件下，产品自生产之日起保质期为24个月。

4.2 pH稳定性

介质在pH 2~14范围内稳定，短时接触强酸、强碱不影响基质与配基性能；常规分离纯化的工作pH范围推荐为5~12。CM为弱酸性基团，其带电程度随pH变化：操作pH越高， pK_a （约4.5），羧基解离越充分、对阳离子的结合能力越强，实际工艺中应根据目标分子的等电点（ pI ）选择操作pH（通常使目标蛋白带正电，操作pH低于其 pI 约0.5~2个单位）。

4.3 化学稳定性

介质在所有常用水相缓冲液中稳定，并可耐受1 M NaOH、8 M尿素、6 M盐酸胍、1 M醋酸、75%乙醇和30%异丙醇，可满足洗脱、清洗与消毒需求。应避免与强氧化剂（如高浓度次氯酸钠、过氧化氢）及阴离子型去垢剂（如十二烷基硫酸钠SDS等）接触，前者会破坏基质与配基，后者可与阳离子配基牢固结合而难以去除。

4.4 再生与重复使用

每次使用后，先用3~5倍柱床体积的高盐缓冲液（如20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 含1~2 M NaCl）冲洗去除结合紧密的杂质，再用平衡缓冲液重新平衡后即可重复使用。污染较重或长期使用时应进行在位清洗（CIP，详见6.5）。规范再生与清洗条件下，介质可重复使用多次而载量无明显下降。

五、应用领域

5.1 重组蛋白与酶的纯化

适用于等电点偏碱性、在操作条件下带正电荷的重组蛋白和酶的捕获与精纯，如溶菌酶、细胞色素c、核糖核酸酶、组蛋白等，可有效去除宿主细胞蛋白、核酸及工艺杂质。

5.2 抗体与疫苗纯化

可用于单克隆抗体、多克隆抗体及重组疫苗抗原的中等纯度纯化与抛光步骤；在



流穿模式下，可使目标抗体流穿而让聚集体、部分宿主蛋白和带正电杂质吸附于介质，实现杂质去除。

5.3 多肽与氨基酸分离

利用不同多肽、氨基酸在特定pH下净电荷的差异，对碱性多肽、酶解肽段及氨基酸混合物进行离子交换分离。

5.4 核酸分离纯化

可用于基因组DNA、质粒DNA及细菌或细胞裂解液中核酸物质的大规模分离，去除带正电的蛋白和其他杂质。

5.5 多糖分离

可用于植物、微生物和细胞来源多糖的分离，适用于中性多糖、酸性多糖和粘多糖等不同带电性质多糖的分级。

5.6 生物制药规模化生产

介质流速快、载量高、可重复使用并耐受1 M NaOH在位清洗，便于工艺验证与微生物控制，适用于生物制药下游工艺的捕获、中间纯化和抛光阶段，支持从实验室工艺开发到GMP规模生产的线性放大。

六、使用方法

6.1 缓冲液准备

根据目标样品的等电点和稳定性选择缓冲体系，基本原则为低盐上样、高盐洗脱。推荐缓冲液见表2；所用纯水和缓冲液建议经0.22 μm 或0.45 μm 滤膜过滤后使用。

表2 推荐缓冲液

缓冲液	组成	用途
结合/平衡缓冲液	50 mM醋酸钠, pH 5.0	填料平衡、样品上样及洗杂
洗脱缓冲液	50 mM醋酸钠, pH 5.0, 含1 M NaCl	盐梯度或步级洗脱目标蛋白；结合紧密时NaCl可用至1 M
再生缓冲液	20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 含1~2 M NaCl	去除结合紧密的蛋白和杂质
在位清洗液	1 M NaOH	去除沉淀蛋白、脂蛋白并控制微生物



注：推荐缓冲液适用于多数带正电荷蛋白的纯化。对于特殊样品，可根据目标蛋白的稳定性、等电点和电荷密度更换缓冲体系（如磷酸盐、MES、Tris等）并优化pH与盐浓度，必要时先做小试筛选。

6.2 填料用量计算

装柱所需沉降介质实体积 V_m 按式计算： $V_m = \text{层析柱横截面积} \times \text{计划柱床高度} \times \text{压缩比}$ 。CM琼脂糖微球6FF的压缩比约为1.15。

本产品以50%悬液浓度供货，量取悬液体积 $= V_m \div 50\%$ 。例如需要10 mL沉降介质时，应量取20 mL均匀悬液。采用离心式批纯化时， V_m 按目标蛋白载量计算，无须考虑压缩比。

6.3 柱层析操作流程

6.3.1 装柱

将介质轻轻颠倒混匀（禁止剧烈涡旋，避免微球破碎），按计算量量取悬液，抽干后用平衡缓冲液按沉降介质与缓冲液约1:1的比例重悬成均匀悬液并脱气。将层析柱垂直固定，沿柱壁一次性倒入介质悬液，避免引入气泡，静置使其自然沉降形成稳定柱床；柱床高度一般建议10~20 cm，随后连接柱头与泵。

6.3.2 平衡

用5~10倍柱床体积的结合/平衡缓冲液以上样流速平衡层析柱，直至流出液的pH、电导与流入液一致、检测器基线稳定。

6.3.3 上样

样品应处于低盐条件，建议透析、超滤脱盐或用平衡缓冲液稀释至与平衡缓冲液电导接近，上样前经0.45 μm 滤膜过滤。推荐上样流速300~600 cm/h，使样品与介质充分接触；收集流穿液检测，必要时将流穿液重复上样以提高结合率。上样量应根据介质载量和小试结果确定。

6.3.4 洗涤

上样后用结合/平衡缓冲液洗涤柱床，先以2~3倍柱床体积洗去未结合组分，再继续洗涤至A280紫外吸收回到基线（通常需十余倍柱床体积），洗涤过程中勿使柱床滴干。



6.3.5 洗脱

可采用恒定洗脱、线性梯度洗脱或步级梯度洗脱。一般以0~1 M NaCl梯度（约5~10倍柱床体积）洗脱，按峰分管收集洗脱液；与介质结合紧密的目标蛋白可直接用含1 M NaCl的洗脱缓冲液洗脱。

6.3.6 再生

洗脱后用3~5倍柱床体积的再生缓冲液（20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 含1~2 M NaCl）冲洗柱床，再用3~5倍柱床体积的平衡缓冲液重新平衡，以备下次使用；失活蛋白、脂类等洗不掉的污染物按6.5进行在位清洗。

6.4 离心式批纯化流程

6.4.1 填料预处理

根据载量量取均匀介质悬液（建议使用剪口大孔径吸头）置于离心管中，4℃、600×g离心5 min去除储存液；加入结合缓冲液轻轻重悬，同条件离心弃上清，重复洗涤3次。

6.4.2 样品结合

加入处于结合缓冲液中的样品，轻轻重悬介质，置于翘板摇床或旋转混合仪上室温孵育30~60 min（易降解样品可于2~8℃结合约1 h）；离心收集上清，可留样检测结合效果，必要时重复结合。

6.4.3 洗涤

加入约1 mL结合缓冲液轻轻重悬介质，4℃、600×g离心5 min弃上清，重复洗涤3~4次，去除非特异性吸附的杂蛋白。

6.4.4 洗脱与收集

加入100~200 μL洗脱缓冲液，轻轻颠倒混匀后摇床振荡洗脱约10 min，4℃、600×g离心5 min，收集上清即为纯化的目标蛋白；可重复洗脱1~2次合并收集，以提高回收率。



6.5 在位清洗 (CIP)

介质长期使用后污染物积累会使柱压升高、柱效和载量下降，建议每1~5次使用循环进行一次在位清洗；污染严重时应立即清洗。CIP推荐流速30~60 cm/h，柱床堵塞严重时可反向清洗。针对不同污染物可分别采用以下方法：

- (1) 结合紧密的蛋白：用2~3倍柱床体积的2 M NaCl清洗；
- (2) 强疏水性蛋白、沉淀蛋白：用3~5倍柱床体积的1 M NaOH清洗，接触0.5~1 h，随后立即用5~10倍柱床体积纯水冲洗至中性；
- (3) 脂蛋白和脂类：用5~10倍柱床体积的70%乙醇或30%异丙醇清洗（使用前超声脱气），再用5~10倍柱床体积纯水冲洗；
- (4) 污染复杂时可将上述条件组合，如使用含1 M NaOH的30%异丙醇溶液清洗。

6.6 灭菌与保存

20%乙醇不具备可靠的杀菌、除热原作用，建议使用前及使用过程中用1 M NaOH处理0.5~1 h以降低微生物污染风险；介质也可在pH 7条件下121℃高压灭菌30 min。使用后的介质应重新悬浮于20%乙醇中，2~8℃密闭保存。

七、 注意事项

7.1 安全操作

操作时应穿戴实验服、一次性手套和护目镜。NaOH、乙醇及异丙醇等试剂具有腐蚀性或易燃性，应在通风良好的环境中规范操作；如不慎接触皮肤或眼睛，立即用大量清水冲洗。

7.2 样品要求

样品必须处于低盐环境，高浓度盐会显著削弱目标分子与介质的结合；上样前应透析、脱盐或稀释，并经0.45 μm滤膜过滤，防止颗粒堵塞柱床。蛋白样品纯化过程中建议置于4℃或冰浴，必要时添加蛋白酶抑制剂。高浓度DTT、β-巯基乙醇等还原剂可能对结合产生一定影响，应控制其浓度。

7.3 操作禁忌

严禁介质与强氧化剂、阴离子型去垢剂（如SDS等）长时间接触，以免破坏基质或



被配基牢固吸附；严禁冷冻和剧烈涡旋振荡，以免微球破碎产生细粉；装柱和运行过程中避免引入气泡、避免柱床干涸；柱压超过0.3 MPa时应停止运行并排查污染或堵塞。

7.4 保存要求

开封后应尽快使用，长期不用时确保介质浸没于20%乙醇储存液中并于2~8℃密闭保存，定期检查储存液量并适时更换，防止微生物滋生和乙醇挥发。

7.5 质量控制

每批次产品均经过离子交换容量、蛋白结合容量、粒径分布、流速与压力等指标检测，确保质量稳定。建议用户正式使用前根据具体样品进行小试验证，优化pH、盐浓度、流速和上样量等工艺参数。

八、订货信息

表3 产品订货信息

产品名称	货号	规格	储存条件
CM琼脂糖微球6FF	QS01070	5 mL	2~8℃
CM琼脂糖微球6FF	QS01070-25	25 mL	2~8℃
CM琼脂糖微球6FF	QS01070-100	100 mL	2~8℃
CM琼脂糖微球6FF	QS01070-500	500 mL	2~8℃

— 本产品仅供科研使用，不用于临床诊断或治疗