



琼脂糖微球 8B

Agarose Microspheres 8B

产 品 手 册

货号：QS01063

版本：V1.0

—— 中小孔径凝胶过滤层析介质（蛋白质 / 抗体片段 / 多肽分级纯化） ——

包装规格：100 mL / 500 mL / 1000 mL

江苏千株松生物科技有限公司

Jiangsu Qianzhusong Biotechnology Co., Ltd.



一、产品概述

琼脂糖微球 8B 是一款以高纯度琼脂糖为原料，通过反向悬浮乳化—交联技术制备的 8% 浓度琼脂糖球状层析介质，定位于中等偏小分子量蛋白质与多肽的凝胶过滤（尺寸排阻）分离，填补了 6B（球蛋白上限 4 MDa）与小孔介质（百 kDa 级）之间的分级窗口，球蛋白分级范围为 5,000 ~ 1,000,000 Da。

凝胶过滤层析（尺寸排阻层析，Gel Filtration / Size Exclusion Chromatography）依据分子的流体力学体积（尺寸）差异进行分离：大于凝胶排阻极限的分子不能进入微球内部孔道，只能沿微球之间的空隙（外水体积， V_0 ）流经层析柱，流程最短、最先流出；小于分级下限的小分子可自由进入微球内部孔道（内水体积， V_i ），流程最长、最后流出；介于二者之间的分子则按尺寸不同程度地进入孔道而获得分离。整个过程为物理分离，介质与样品之间无离子、疏水等结合作用，缓冲体系可自由选择，分离条件温和，有利于保持生物大分子的天然构象与活性。

相较于低浓度大孔型号，8% 琼脂糖形成更致密、均一的中小孔网络，孔道筛分效应更强、机械刚性更好，可在更高流速与压力下保持柱床稳定，同时保留琼脂糖基质低非特异性吸附、高回收率与良好生物相容性的固有优势。

本产品适用于常规治疗性蛋白、抗体片段、酶、细胞因子与多肽的分离纯化、聚体去除及蛋白—小分子分离，也可作为中小分子配基的亲合/离子交换层析基础骨架，适配实验室研发、中试及规模化生产，性能可等效替代同级别进口琼脂糖 SEC 介质。

二、产品特点

2.1 中小孔致密结构，蛋白/多肽分级窗口精准

8% 琼脂糖提供 5 kDa ~ 1 MDa（球蛋白）的分级范围，覆盖绝大多数治疗性蛋白、酶、抗体片段与大分子多肽，可实现目标蛋白与聚体、降解片段、小分子杂质的高效分离。

2.2 刚性提升，可承受更高流速与压力

较高琼脂糖浓度使基质机械强度明显优于 4B/6B，最大工作压力达 0.04 MPa、推荐流速 8 ~ 20 cm/h，柱床不易压缩，装柱与重复使用稳定性好，便于工艺放大与缩短分离周期。

2.3 低非特异性吸附，样品回收率高

高纯度中性琼脂糖基质无带电基团、亲水性强，对蛋白与多肽非特异性吸附极低，目标样品回收率 $\geq 95\%$ ，可在温和条件下保留蛋白的天然构象与生物活性。

2.4 孔道均一，分辨率与重复性好

精准乳化交联工艺保证孔径与粒径分布均一，理论塔板数 $\geq 3500/m$ 、峰不对称因子 0.8 ~ 1.2，对分子量差异约 2 倍的蛋白具有良好基线分离能力，批次间重复性好。

2.5 耐化学清洗，可多次重复使用

可耐受 8 M 尿素、6 M 盐酸胍及短期 1 M NaOH 清洗，能通过标准 CIP 流程去除沉淀蛋白与顽固污染物，重复使用次数多，有效降低耗材成本。

2.6 羟基丰富，便于配基偶联

表面活性羟基可经 CNBr、环氧、NHS 等方法活化，偶联蛋白 A/G、金属离子、抗体、染料等配基，制备中小分子靶向亲和、离子交换或疏水层析介质。

三、技术参数


表1 琼脂糖微球 8B 技术参数

参数项目	技术指标
产品名称	琼脂糖微球 8B (Agarose Microspheres 8B)
基质	高纯度 8% 交联琼脂糖凝胶
产品类型	凝胶过滤 (尺寸排阻) 层析介质; 可作为定制化层析介质基础骨架
分级范围 (球状蛋白)	5,000 Da ~ 1,000,000 Da
分级范围 (葡聚糖)	5,000 Da ~ 300,000 Da
排阻极限 (球状蛋白)	1,000,000 Da
粒径范围	40 μm ~ 150 μm (平均粒径约 90 μm)
推荐柱床高度	20 cm ~ 110 cm
推荐线性流速	8 ~ 20 cm/h
最大操作压力	0.04 MPa (0.4 bar); 最高耐受压力 0.05 MPa (0.5 bar)
理论塔板数	≥ 3500 塔板数/m
工作 pH 范围	4.0 ~ 9.0
pH 稳定性 (短时清洗)	2.0 ~ 14.0
推荐工作温度	4 ~ 30 $^{\circ}\text{C}$
化学相容性	耐受 8 M 尿素、6 M 盐酸胍、30% 乙醇、20% 异丙醇、1 M 乙酸、1 M NaOH (短期) 及常规生化缓冲液、中性有机溶剂
不相容物质	强氧化剂 (高氯酸盐、过硫酸盐等)、强极性有机溶剂 (丙酮、乙腈浓度 $> 50\%$)、121 $^{\circ}\text{C}$ 高温高压灭菌
供货悬液浓度	约 50% (沉降介质占悬液总体积的约 50%)
储存缓冲液	20% (v/v) 乙醇水溶液
储存温度	2 ~ 8 $^{\circ}\text{C}$, 避光、防冻、防干涸
保质期	密封保存条件下 24 个月; 开封后规范储存可使用 12 个月

四、储存条件与稳定性

4.1 储存条件

产品出厂时介质以约 50% 悬液浓度保存于 20% (v/v) 乙醇水溶液中, 应于 2 ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 避光、密封保存, 严禁冷冻 (结冰会破坏琼脂糖珠体结构, 导致柱床产生空隙、柱效不可逆下降), 并始终保持介质浸没于液面以下, 严禁干涸。运输与储存中应避免剧烈震动、倒置与高温暴晒。密封保存条件下, 产品自生产之日起保质期为 24 个月; 开封后在无菌操作、规范储存条件下可使用 12 个月。

4.2 pH 稳定性

本产品长期连续工作的推荐 pH 范围为 4 ~ 9; 短时清洗/再生可耐受 pH 2 ~ 14.0, 可使用规定浓度的 NaOH 进行在位清洗与微生物控制, 清洗后应立即用纯水或平衡缓冲液冲洗至中性, 避免长期高温强碱接触。

4.3 化学稳定性

介质在常用水相缓冲液中稳定, 耐受 8 M 尿素、6 M 盐酸胍、30% 乙醇、20% 异丙醇、1 M 乙酸、1 M NaOH (短期) 及常规生化缓冲液、中性有机溶剂。应避免与下列物质/条件接触: 强氧化剂 (高氯酸盐、过硫酸盐等)、强极性有机溶剂 (丙酮、乙腈浓度 $> 50\%$)、121 $^{\circ}\text{C}$ 高温高压灭菌。

4.4 再生与重复使用

每次分离后, 先用 2 ~ 3 倍柱床体积高盐缓冲液 (如 2 M NaCl + 20 mM PB, pH



7.4) 冲洗去除非特异性吸附杂质, 再用 3 ~ 5 倍柱床体积平衡缓冲液重新平衡即可重复使用; 污染较重、柱压升高或分辨率下降时按 6.5 进行在位清洗。规范再生与清洗条件下, 介质可重复使用多次而分离性能无明显下降; 建议在同一项目、同一类样品范围内重复使用, 不同样品间不建议交叉使用。

五、应用领域

5.1 治疗性蛋白与酶纯化

用于白蛋白、球蛋白、工业酶、细胞因子、生长因子等数万至数十万 Da 蛋白的纯净与分级, 去除杂蛋白、聚体及降解片段。

5.2 抗体片段与重组蛋白分离

适用于 Fab、scFv、单域抗体 (VHH)、Fc 融合片段及中小分子量重组蛋白的单体—聚体分离与缓冲液置换。

5.3 多肽与蛋白分离

实现大分子多肽/小蛋白与盐、辅料、小分子添加剂的分离, 以及多肽混合物按分子量的初步分级。

5.4 低聚糖与多糖片段分级

用于低聚寡糖、多糖降解片段、糖肽的分子量分级与单糖/盐离子去除。

5.5 蛋白样品脱盐与缓冲液置换

快速去除蛋白溶液中的盐、咪唑、变性剂、小分子抑制剂, 替代透析与超滤, 减少样品稀释与活性损失。

5.6 定制化层析介质基础骨架

微球表面富含活性羟基, 可经 CNBr、环氧、NHS 等方法活化偶联各类配基, 制备定制化层析介质:

- 中小分子亲和介质: 偶联蛋白 A/G、金属螯合离子、染料、底物类似物等配基, 用于抗体片段、标签蛋白、酶的亲和纯化;
- 离子交换/疏水介质基质: 制备适合中小蛋白的阴/阳离子交换及疏水层析介质;
- 固定化酶载体: 用于中小分子底物的连续酶催化反应, 提升酶重复利用率。

5.7 其他应用

- 重组蛋白工艺开发: 用于大肠杆菌、酵母表达中小分子量重组蛋白的下游纯化与质控;
- 食品与工业酶制剂: 用于蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶等酶制剂的分离精制;
- 生化分析: 配合分子量标准品测定蛋白/多肽分子量与分布;
- 天然产物: 用于糖肽、寡糖、中小分子糖蛋白的分离纯化。

六、使用方法

6.1 操作方式与设备选择

本产品为 8% 中小孔琼脂糖基质, 刚性中等偏好, 可采用自然重力流, 也可使用蠕动泵、AKTA 等低压层析系统; 层析柱应垂直固定并保持液封, 不得使柱床流干, 操作压力不应超过 0.04 MPa (0.4 bar)。

6.2 使用前准备

(1) 检查包装: 确认包装无破损、无渗漏、无冻裂, 保存液澄清无浑浊、无霉变、无异味, 介质无结块、无明显变色; 如有异常请勿使用并联系供应商。

(2) 介质准备: 冷藏介质提前取出于室温 (20 ~ 25 °C) 平衡约 30 min, 避免温差产生气泡; 轻轻颠倒容器使介质混匀, 严禁剧烈搅拌、超声或高速离心; 按目标柱床体



积约 1.5 倍量取悬液，用平衡缓冲液沉降洗涤 3 次以去除储存乙醇。

(3) 样品准备：样品上样前应经 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤去除颗粒，高黏度样品建议稀释至蛋白浓度 10 mg/mL 以下。精细分级时上样体积宜为柱床体积的 1%~5%，脱盐/组分离可放宽至约 30%；上样流速建议为工作流速的 50%~70%。

(4) 缓冲液准备：凝胶过滤的洗脱（平衡）缓冲液可按目标分子稳定需求自由选择（如 PBS、20 mM Tris-HCl、20 mM PB 等），所用纯水与缓冲液建议经 0.22 μm 滤膜过滤并充分脱气，pH 控制在工作范围内。

6.3 装柱

(1) 将介质轻轻颠倒混匀（禁止剧烈涡旋），按目标柱床体积约 1.5 倍量取悬液，抽干后用平衡缓冲液按约 1:1 重悬并脱气；

(2) 层析柱垂直固定，关闭下口，加入约 1/3 柱体积平衡缓冲液并排尽气泡，沿柱壁一次性连续倒入介质悬液；

(3) 打开下口，优先以推荐流速约 50% 使介质自然沉降；如需缩短时间，可施加不超过最大工作压力 50% ($\leq 0.02\text{ MPa}$) 的低压力辅助沉降，直至柱床高度稳定；

(4) 安装柱头适配器使其紧贴柱床表面；推荐柱床高度 20 ~ 110 cm；

(5) 以 3 ~ 5 倍柱床体积平衡缓冲液冲洗平衡至基线平稳，测定理论塔板数（应 $\geq 3500/\text{m}$ ）与峰不对称因子（0.8 ~ 1.2），合格后使用。

6.4 柱层析操作流程

6.4.1 平衡

用 3 ~ 5 倍柱床体积平衡缓冲液以推荐工作流速平衡层析柱，直至流出液的 pH、电导与流入液一致、紫外检测器基线稳定。

6.4.2 上样

待柱床上方液面刚好进入柱床（液面与上筛板平齐）时，沿柱壁缓慢加入样品，避免冲扰柱床；上样体积与流速按 6.2 (3) 控制。脱盐/缓冲液置换为组分离，可采用较大上样量与常规流速；分子量精细分级应减小上样量、降低流速，以获得足够分辨率。

6.4.3 洗脱与收集

凝胶过滤采用等度洗脱，以平衡缓冲液作为洗脱液，按推荐工作流速洗脱。以紫外 A280（蛋白/多肽）、A260（核酸）或相应特征波长监测：大于排阻极限的大分子最先在外水体积流出，盐等小分子最后流出；精细分级时按各洗脱峰分别、完整收集，避免目标峰遗漏。

6.4.4 再生

单次分离后，用 2 ~ 3 倍柱床体积高盐缓冲液（2 M NaCl + 20 mM PB, pH 7.4）冲洗柱床去除非特异性吸附杂质，再用 3 ~ 5 倍柱床体积平衡缓冲液重新平衡，即可进行下一次分离。

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、柱效与回收率下降，建议每 10 ~ 15 次使用循环进行一次在位清洗，污染严重时立即清洗；CIP 以约 30% 推荐流速低流速正向进行，清洗后立即用纯水冲至中性并重新平衡。针对不同污染物可分别采用：

(1) 残留/沉淀蛋白：用 2 ~ 3 倍柱床体积 0.5 M NaOH 低流速正向冲洗并接触约 30 min，随后用 5 ~ 10 倍柱床体积纯水冲至中性；

(2) 脂类及疏水性污染物：用 3 ~ 5 倍柱床体积 20% 异丙醇或 30% 乙醇冲洗（用前脱气），再用纯水冲净；

(3) 高盐沉淀：用 3 ~ 5 倍柱床体积纯水冲洗；污染复杂时可在耐受范围内组合上述



条件，处理后重新平衡。

6.6 使用后保存

使用后的介质应重新悬浮并保存于 20% (v/v) 乙醇水溶液中，使介质完全浸没，密封后于 2 ~ 8 °C 避光保存，防止干涸、冷冻与微生物滋生，长期不用时定期检查液面与保存液。本产品为轻度交联琼脂糖基质，不耐受 121 °C 高压蒸汽灭菌，日常微生物控制推荐按 6.5 以规定浓度 NaOH 处理并以 20% 乙醇保存。

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。乙醇、异丙醇易燃，NaOH、变性剂等应规范操作并保持环境通风、远离明火；如不慎接触皮肤或眼睛，应立即用大量清水冲洗至少 15 min，必要时就医。处理致病性样品须在相应生物安全等级场所进行，废液与废弃介质按规范消毒处置。

7.2 样品要求

样品必须澄清，上样前应离心或过滤，严禁将含可见颗粒、沉淀或高黏度样品直接上柱，以免堵塞筛板、升高柱压；样品缓冲液应与平衡缓冲液一致，高黏度样品需稀释，精细分级应减小上样体积并降低流速。样品中强极性有机溶剂浓度不宜超过 50%，pH 应控制在工作范围内。

7.3 操作禁忌

严禁冷冻、干燥脱水与高速离心；操作压力不应超过 0.04 MPa，避免超压、超流速导致柱床压缩或微球破碎；避免反向冲洗；严禁与强氧化剂、浓度 > 50% 的丙酮/乙腈等强极性有机溶剂长时间接触；本产品不耐受 121 °C 高压蒸汽灭菌。

7.4 保存要求

产品应始终浸没于 20% 乙醇中，2 ~ 8 °C 密封、避光保存，防冻、防热、防倒置、防干涸；开封后应尽快使用，重复使用时仅限同一项目同类样品，并做好使用与清洗记录；若出现霉变、结块、严重变色或颗粒破碎，应停止使用。

八、订货信息

表2 琼脂糖微球 8B订货信息

产品名称	货号	包装规格	储存条件
琼脂糖微球 8B	QS01063	100 mL	2 ~ 8 °C
琼脂糖微球 8B	QS01063-500	500 mL	2 ~ 8 °C
琼脂糖微球 8B	QS01063-1000	1000 mL	2 ~ 8 °C

注：系列货号为 QS01063，后缀数字对应包装规格 (mL)；如需其他包装规格、预装柱或定制化配基偶联产品，请联系本公司或当地经销商。

— 本产品仅供科研与工业生产使用，不用于临床诊断或治疗 —