



琼脂糖微球 12B

Agarose Microspheres 12B

产 品 手 册

货号：QS01065

版本：V1.0

—— 最小孔径凝胶过滤层析介质（短肽 / 寡核苷酸 / 小分子精细分级与脱盐） ——

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 12B 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 12% 浓度琼脂糖球状层析介质，是本系列中琼脂糖浓度最高、孔径最小、筛分分辨率与机械刚性最高的凝胶过滤（尺寸排阻）介质，球蛋白分级范围为 500 ~ 100,000 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。

12% 高浓度琼脂糖形成致密、窄分布的微孔网络，对短肽、寡核苷酸、核苷酸及小分子蛋白具有极强的尺寸筛分能力；高基质浓度同时赋予微球突出的机械强度、耐压性与流速适应性，柱床稳定、塔板效率高，适合对分辨率要求苛刻的小分子分离与高频重复使用场景。

本产品适用于短肽/多肽、寡核苷酸与核苷酸、小分子蛋白的高分辨率分离、分子量分级与精细脱盐，以及蛋白质样品中小分子盐、辅料、试剂残留的去除，也可作为小分子配基高密度固定化、小分子亲和与离子交换介质的基础骨架，满足实验室研发、中试与规模化生产需求。

二、产品特点

2.1 系列最小孔径，短肽/寡核苷酸分辨能力最强

12% 琼脂糖提供 500 Da ~ 100 kDa（球蛋白）的分级范围，可对短肽、小分子多肽、寡核苷酸、核苷酸进行精细尺寸筛分，是本系列中可分离分子量下限最低、分辨率最高的型号。

2.2 微孔结构均一，塔板效率高

致密均一的微孔网络配合较窄粒径分布，理论塔板数 $\geq 4500/m$ 、峰不对称因子 0.8 ~ 1.2，峰形尖锐、拖尾小，适合对小分子量差异样品的高分辨率分析与制备。

2.3 机械刚性最高，耐压耐高速

高浓度基质机械强度为系列最高，最大工作压力达 0.08 MPa、推荐流速 12 ~ 30 cm/h，柱床抗压缩、不沟流，装柱重复性好，可显著缩短分离周期、便于工艺放大。

2.4 小分子精细脱盐，产物损失低

可高效分离多肽/小蛋白与盐、咪唑、有机溶剂、游离核苷酸、保护基及小分子试剂，替代透析与凝胶过滤脱盐，减少短肽在膜/介质上的吸附损失。

2.5 耐碱耐清洗，稳定性与复用性好

可耐受短期 1 M NaOH 在位清洗及 8 M 尿素、6 M 盐酸胍等，便于彻底去除多肽、核酸污染与内毒素，重复使用次数多，批次稳定性好。

2.6 羟基密集，小分子配基固定化载量高

单位体积活性羟基含量高，适合经 CNBr、环氧、NHS 等活化高密度偶联小分子配基、染料、金属离子、短肽或核苷酸，制备高载量小分子亲和、离子交换、疏水介质。

三、技术参数


表1 琼脂糖微球 12B技术参数

参数项目	技术指标
产品名称	琼脂糖微球 12B (Agarose Microspheres 12B)
基质	高纯度 12% 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)	500 Da ~ 100,000 Da
分级范围 (葡聚糖)	500 Da ~ 30,000 Da
排阻极限 (球状蛋白)	100,000 Da
粒径范围	50 μm ~ 150 μm (平均粒径约 75 μm)
推荐柱床高度	20 cm ~ 120 cm
推荐线性流速	12 ~ 30 cm/h
最大操作压力	0.08 MPa (0.8 bar); 最高耐受压力 0.10 MPa (1.0 bar)
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 短肽与小分子多肽纯化

用于二肽/寡肽、合成短肽、多肽药物中间体、小分子活性肽的高分辨率分离、聚体去除与分子量分级。

5.2 寡核苷酸与核苷酸分离

用于短链寡核苷酸、引物、探针、核酸适配体、siRNA 片段与游离核苷酸、单核苷、盐及合成副产物的分离纯化。

5.3 小分子蛋白精细分级

用于 100 kDa 以下小蛋白、酶、多肽—蛋白混合体系的高分辨率分级与纯度质控。

5.4 精细脱盐与试剂残留去除

用于多肽、小蛋白、偶联反应体系中小分子盐、咪唑、还原剂、有机溶剂、游离配基与交联剂的去除及缓冲液置换。

5.5 天然小分子/糖苷分离

用于糖苷、黄酮苷、寡糖、小分子糖肽与大分子杂质的分离及分子量分级。

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：

- 小分子亲和介质：高密度偶联染料、金属离子、底物/辅酶类似物、短肽与核苷酸配基，用于酶、小蛋白、多肽的高载量亲和纯化；
- 离子交换/疏水介质基质：制备适合多肽、寡核苷酸、小分子蛋白的高分辨率离子交换与疏水介质；
- 固定化载体：用于小分子底物酶催化、多肽/小分子配基固定化与连续反应。

5.7 其他应用

- 多肽与核酸药物：用于合成多肽、寡核苷酸药物的下游精细纯化与质控；
- 生物偶联与标记：用于蛋白/抗体标记、偶联反应后游离小分子（荧光素、生物素、交联剂）的去除；
- 生化分析：配合低分子量标准品测定短肽、寡核苷酸、寡糖的分子量与分布；
- 食品与天然产物：用于活性短肽、低聚糖、糖苷类小分子的分离精制。

六、使用方法

6.1 操作方式与设备选择

本产品为 12% 最小孔琼脂糖基质，是本系列中机械刚性与塔板效率最高的型号，可采用自然重力流或低压加压操作，推荐配合蠕动泵、AKTA 等低压层析系统进行高分辨率分离；层析柱垂直固定并保持液封，不得使柱床流干，操作压力不应超过 0.08 MPa (0.8 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，高黏度样品建议稀释至蛋白浓度 15 mg/mL 以下。精细分级时上样体积宜为柱床体积的 1%~5% 并采用较低流速以获得最高分辨率，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，可自然重力沉降，或施加 0.04 ~ 0.05 MPa 低压力、以推荐流速约 80% 使介质匀速沉降，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 ~ 120 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 $\geq 4500/\text{m}$ ）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、短肽与寡核苷酸污染：用 2 ~ 3 倍柱床体积 0.5 ~ 1 M NaOH 低流速正向冲洗并接触 30 ~ 60 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) 高盐与小分子沉淀：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 0.08 MPa，避免超压、超流速运行；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 12B订货信息

产品名称	货号	包装规格	储存条件
琼脂糖微球 12B	QS01065	100 mL	2 ~ 8 °C
琼脂糖微球 12B	QS01065-500	500 mL	2 ~ 8 °C
琼脂糖微球 12B	QS01065-1000	1000 mL	2 ~ 8 °C

注：系列货号为 QS01065，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 —