



琼脂糖微球 2B

Agarose Microspheres 2B

产品手册

货号：QS01062

版本：V1.0

—— 超大孔径凝胶过滤层析介质（细胞外囊泡 / 病毒颗粒 / 超大分子分级纯化） ——

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 2B 是一款以高纯度琼脂糖为原料，通过反向悬浮乳化—可控交联技术制备的 2% 浓度琼脂糖球状层析介质，是本系列中琼脂糖浓度最低、孔径最大、排阻极限最高的凝胶过滤（尺寸排阻，SEC）介质，同时也是超大分子靶向亲和层析介质的理想基础骨架。

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。

2% 低浓度琼脂糖形成均一、贯通的超大孔三维网络，球蛋白排阻极限高达 40,000,000 Da（40 MDa），可高效处理传统 4B、6B 等中孔径介质无法容纳的超大分子量样品，广泛适用于细胞外囊泡（外泌体）、病毒颗粒与病毒载体、病毒样颗粒（VLP）、大型质粒与核酸、超大蛋白复合物及高分子量多糖的分离纯化。

本产品完整保留了琼脂糖基质优异的亲水性、极低的非特异性吸附与生物相容性，可在温和生理条件下最大程度维持囊泡、病毒、核酸等活性样品的天然结构与功能。全流程在 GMP 级生产线封闭制备，批次稳定、溯源完整，性能可等效替代进口同类产品（Sephacrose 2B / CL-2B），适用于实验室科研、中试放大及规模化生产。

二、产品特点

2.1 系列最大孔径，排阻极限高达 40 MDa

2% 琼脂糖构筑超大孔道结构，球蛋白排阻极限达 40,000,000 Da、葡聚糖分级上限达 20,000,000 Da，是本系列中可分离分子尺寸最大的型号，专门解决病毒、囊泡、大质粒等超大样品在常规介质中无法进入孔道、直接随空体积流穿的问题。

2.2 极低非特异性吸附，超大分子回收率高

采用高纯度琼脂糖原料，基质不含带电修饰基团、亲水性极强，对囊泡、病毒、核酸、多糖及蛋白的非特异性吸附极低，目标样品回收率 $\geq 95\%$ ，且无明显变性失活风险，尤其利于保护膜结构囊泡与包膜病毒的完整性与感染活性。

2.3 温和条件分离，生物相容性优异

琼脂糖为天然多糖基质，无毒、无免疫原性，可在近生理 pH 与离子强度下完成全流程分离，避免极端条件对病毒、外泌体、质粒等活性样品的损伤，是细胞外囊泡与基因治疗载体下游纯化的经典 SEC 介质。

2.4 超大孔传质顺畅，大分子分辨率良好

贯通的超大孔网络显著降低了超大分子的传质阻力，使囊泡、病毒颗粒可自由进出孔道，依据流体力学尺寸实现颗粒与游离蛋白、脂蛋白、核酸片段、小分子杂质的基线分离，对尺寸差异 ≥ 3 倍的超大分子具有良好分级能力。

2.5 羟基丰富，是超大分子亲和介质的优质骨架

微球表面富含活性羟基，可经 CNBr、环氧、NHS 等方法活化，偶联肝素、抗体、凝集素等配基制备超大分子靶向亲和介质；超大孔道可显著提升病毒、囊泡等大尺寸靶标的可接近性与结合载量。

2.6 批次稳定、合规可溯

全流程遵循 GMP 规范生产，每批次经全项性能检测，批次间关键参数偏差 $\leq 5\%$ ，



提供完整批生产记录、溯源记录与检验报告（COA），可满足生物制药研发与申报的合规要求。

三、技术参数

表1 琼脂糖微球 2B技术参数

参数项目	技术指标
产品名称	琼脂糖微球 2B (Agarose Microspheres 2B)
基质	高纯度 2% 交联琼脂糖凝胶（非深度交联）
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）	70,000 Da ~ 40,000,000 Da
分级范围（葡聚糖）	100,000 Da ~ 20,000,000 Da
排阻极限（球状蛋白）	40,000,000 Da
粒径范围	60 μm ~ 200 μm（平均粒径约 130 μm）
推荐柱床高度	20 cm ~ 70 cm
推荐线性流速	1 ~ 5 cm/h
最大操作压力	0.008 MPa (0.08 bar)；最高耐受压力 0.012 MPa (0.12 bar)
理论塔板数	≥2000 塔板数/m
峰不对称因子	0.8 ~ 1.2
工作 pH 范围	4.0 ~ 9.0
pH 稳定性（短时清洗）	2.0 ~ 12.0
推荐工作温度	4 ~ 30 °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）、高浓度强碱（>0.5 M NaOH 长期接触）、强极性有机溶剂（丙酮、乙腈浓度>50%）、121 °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 °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 °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

本产品为 2% 低浓度轻度交联琼脂糖基质，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 ~ 12，但应避免高浓度强碱长时间接触（在位清洗建议 0.1 ~ 0.5 M NaOH、接触 15 ~ 30 min，随后立即冲至中性），亦应避免长时间强酸条件。



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）、高浓度强碱（ >0.5 M NaOH 长期接触）、强极性有机溶剂（丙酮、乙腈浓度 $>50\%$ ）、 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 1.5 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 细胞外囊泡与外泌体纯化

用于细胞培养上清、血浆、体液等来源的外泌体及细胞外囊泡（EV）的尺寸排阻分离，高效去除游离蛋白、脂蛋白、核酸碎片及聚集体，最大程度保留囊泡颗粒数、形态与生物活性。

5.2 病毒颗粒与病毒载体纯化

适用于腺相关病毒（AAV）、腺病毒、慢病毒、逆转录病毒、噬菌体及病毒样颗粒（VLP）、疫苗抗原等超大颗粒的分级与除杂，分离完整病毒颗粒与宿主细胞蛋白、空壳、碎片及小分子杂质。

5.3 大型核酸与蛋白复合物分离

用于大型质粒 DNA、基因组 DNA、mRNA-LNP 复合物，以及 IgM、补体复合物、脂蛋白、胶原蛋白、核糖体等超大蛋白复合物的分离纯化与分子量分级。

5.4 高分子量多糖分级

适用于透明质酸、肝素、硫酸软骨素、真菌/中药来源高分子多糖等的分子量分级与除杂，去除低聚糖、单糖、盐离子及小分子色素。

5.5 超大分子脱盐与缓冲液置换

针对高黏度、超大分子量样品快速脱盐、去除变性剂与小分子辅料，替代透析，避免样品稀释、团聚与活性损失。

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：

- 病毒/囊泡亲和和介质骨架：经肝素、抗体、凝集素等配基活化偶联，制备病毒载体、外泌体特异性亲和捕获介质；
- 超大分子离子交换/疏水介质基质：用于核酸、高分子多糖等超大分子的离子交换或疏水层析介质；
- 固定化载体：作为大分子底物酶催化、多糖转化等场景的固定化酶/细胞载体。

5.7 其他应用

- 基因治疗与 mRNA 疫苗研发：用于 LNP、病毒载体的下游除杂与颗粒分级；
- 血液制品：用于 IgM、纤维蛋白原、凝血因子复合物等大分子血液制品分离；
- 结构生物学与纳米医药：用于蛋白复合物、病毒衣壳、纳米颗粒/脂质体的均一化制备；



- 天然产物：用于真菌、藻类及中药来源高分子活性多糖、糖蛋白的分离与分子量表征。

六、使用方法

6.1 操作方式与设备选择

本产品为 2% 低浓度超大孔软质基质，机械强度低、耐压低，推荐采用自然重力流操作，或使用蠕动泵、AKTA 等低压层析系统以很低泵速运行；层析柱应垂直固定，柱体上方保持液封，全程不得使柱床流干，操作压力严禁超过 0.008 MPa (0.08 bar)，严禁加压装柱与快速压实。

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：样品应澄清，上样前以低速离心去除沉淀，或经 0.45 μm 滤膜温和过滤；病毒、外泌体、质粒等易破损样品优先采用低速离心，避免高速过滤导致颗粒破裂。样品黏度不宜过高，建议稀释至 5 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 20%；超大分子样品上样流速应降低至推荐工作流速的约 50%，使其充分进入孔道。

(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（严禁剧烈涡旋、超声或高速离心，以免超大孔软质微球破碎），按目标柱床体积约 1.5 倍量取均匀悬液，抽干后用平衡缓冲液按沉降介质与缓冲液约 1:1 的比例重悬并脱气；

(2) 将层析柱垂直固定，关闭下口，加入约 1/3 柱体积平衡缓冲液并排尽筛板与管路气泡；沿柱壁一次性、连续、缓慢倒入介质悬液，避免引入气泡与分层；

(3) 打开下口，控制流速为推荐流速的约 50%，使介质在不加外压的条件下自然重力沉降，直至柱床高度稳定，沉降全过程严禁加压、严禁敲击柱体；

(4) 柱床稳定后安装柱头适配器，使其紧贴柱床表面、不留空隙也不挤压柱床；推荐柱床高度 20 ~ 70 cm；

(5) 以 3 ~ 5 倍柱床体积平衡缓冲液冲洗平衡，至柱床高度稳定、基线平稳，并用丙酮/氯化钠标准品测定理论塔板数（应≥2000/m）与峰不对称因子（0.8 ~ 1.2），合格后方可使用。

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（1.5 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）残留蛋白：用 2 ~ 3 倍柱床体积的 0.1 ~ 0.5 M NaOH 低流速正向冲洗并接触 15 ~ 30 min，随后立即用 5 ~ 10 倍柱床体积纯水冲至中性；严禁高浓度强碱长时间接触；

（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；污染复杂时可在本产品耐受范围内组合上述条件，处理后立即冲至中性并重新平衡。

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、高速离心与高压压实；

严禁超过 0.008 MPa 操作压力和超推荐流速运行；

严禁加压装柱、反向冲洗与高浓度（>0.5 M）NaOH 长时间接触；

严禁与强氧化剂、高浓度强极性有机溶剂接触；

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 2B订货信息

产品名称	货号	包装规格	储存条件
琼脂糖微球 2B	QS01062	100 mL	2 ~ 8 °C
琼脂糖微球 2B	QS01062-500	500 mL	2 ~ 8 °C
琼脂糖微球 2B	QS01062-1000	1000 mL	2 ~ 8 °C

注：系列货号为 QS01062，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 —