



琼脂糖微球 10B

Agarose Microspheres 10B

产 品 手 册

货号：QS01064

版本：V1.0

—— 小孔径凝胶过滤层析介质（小蛋白 / 多肽 / 寡核苷酸高分辨率分级） ——

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 10B 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 10% 浓度琼脂糖球状层析介质，定位于小分子量蛋白、多肽与寡核苷酸的高分辨率凝胶过滤（尺寸排阻）分离，球蛋白分级范围为 1,000 ~ 300,000 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_o ）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。

10% 高浓度琼脂糖形成致密、窄分布的小孔网络，筛分选择性集中于小蛋白与多肽区间，其分级范围与国际经典高交联小孔琼脂糖介质（Superose 12，球蛋白 1 kDa ~ 300 kDa）相对应；同时较高的基质浓度赋予微球更好的机械刚性、耐压性与流速适应性，柱床稳定、装柱重复性好。

本产品适用于多肽激素、小蛋白、细胞色素类小分子蛋白、抗体片段、寡核苷酸与低聚糖的分离纯化、聚体去除及小分子脱盐，也可作为小分子配基高密度固定化的基础骨架，满足实验室研发、中试与规模化生产需求。

二、产品特点

2.1 小孔高分辨，专攻小蛋白与多肽

10% 琼脂糖提供 1 kDa ~ 300 kDa（球蛋白）的分级范围，对胰岛素、多肽激素、细胞色素 C、生长因子、小分子酶等具有优异的尺寸筛分能力，可实现分子量差异约 1.5 ~ 2 倍样品的高分辨率分离。

2.2 寡核苷酸/低聚糖适配性好

小孔网络与亲水孔道适合寡核苷酸、核酸适配体、siRNA 片段及低聚寡糖按链长/分子量分级，有效去除单核苷酸、盐、保护基与小分子杂质。

2.3 刚性好、流速快、柱床稳定

高浓度基质机械强度高，最大工作压力达 0.06 MPa、推荐流速 10 ~ 25 cm/h，理论塔板数 $\geq 4000/m$ ，装柱与重复上样过程中柱床不易压缩、沟流，重复性与放大性能好。

2.4 非特异性吸附低、回收率高

中性亲水的高纯度琼脂糖基质对多肽、小蛋白与寡核苷酸吸附极低，目标样品回收率 $\geq 95\%$ ，并可减少小肽在介质上的疏水/离子性二次作用导致的拖尾。

2.5 耐碱耐清洗，重复使用次数多

可耐受短期 1 M NaOH 在位清洗及 8 M 尿素、6 M 盐酸胍等变性剂，便于彻底去除多肽/核酸污染与内毒素，延长介质使用寿命，降低生产成本。

2.6 羟基密集，利于小分子配基高密度偶联

单位体积羟基含量高，可经 CNBr、环氧、NHS 等活化高密度偶联小分子配基、染料、金属离子或短肽，制备高载量亲和、离子交换或疏水介质。

三、技术参数

表1 琼脂糖微球 10B技术参数

参数项目	技术指标
产品名称	琼脂糖微球 10B (Agarose Microspheres 10B)

地址：江苏省镇江市宝华镇仙林东路16号双创大厦1207室

www.qianzhusong.com



参数项目	技术指标
基质	高纯度 10% 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）	1,000 Da ~ 300,000 Da
分级范围（葡聚糖）	1,000 Da ~ 100,000 Da
排阻极限（球状蛋白）	300,000 Da
粒径范围	50 μm ~ 150 μm （平均粒径约 75 μm ）
粒径均一性（CV 值）	$\leq 20\%$
推荐柱床高度	20 cm ~ 120 cm
推荐线性流速	10 ~ 25 cm/h
最大操作压力	0.06 MPa（0.6 bar）；最高耐受压力 0.08 MPa（0.8 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 多肽与小蛋白纯化

用于胰岛素、胰高血糖素、多肽激素、生长因子、细胞色素 C、溶菌酶片段、小分子酶及抗菌肽等的分离纯化与聚体/片段去除。

5.2 抗体片段分级

适用于 scFv、VHH、Fab 及小分子量重组片段的单体—聚体分离与纯度精制。

5.3 寡核苷酸纯化

用于反义寡核苷酸 (ASO)、核酸适配体、siRNA、引物及核酸片段按链长分级，去除单核苷酸、盐与合成副产物。

5.4 低聚糖与糖肽分级

用于低聚寡糖、糖肽、小分子多糖降解产物的分子量分级与单糖/盐去除。

5.5 小分子级脱盐与缓冲液置换

对多肽、小蛋白样品高效脱盐、去除有机溶剂、变性剂与小分子添加剂，替代透析，减少小肽损失与吸附。

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、底物类似物、短肽配基，用于小蛋白/酶/多肽亲和纯化；
- 离子交换/疏水介质基质：制备适合多肽、寡核苷酸的阴/阳离子交换及疏水层析介质；
- 固定化酶/多肽载体：用于小分子底物的酶催化与多肽固定化。

5.7 其他应用

- 多肽药物研发：用于合成多肽、重组多肽药物的下游纯化与质控分析；
- 核酸药物与诊断：用于寡核苷酸药物、探针、引物的纯化与分级；
- 生化/制药分析：配合标准品测定多肽、小蛋白、寡糖分子量及分布；
- 天然产物：用于寡糖、糖苷类、小分子活性肽的分离精制。

六、使用方法

6.1 操作方式与设备选择

本产品为 10% 小孔琼脂糖基质，机械刚性较好，可采用自然重力流或低压加压操作，推荐配合蠕动泵、AKTA 等低压层析系统以获得稳定流速与高分辨率；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 0.06 MPa (0.6 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；按目标柱床体积分约 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 10 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，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 0.03 ~ 0.04 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 $\geq 4000/\text{m}$ ）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、多肽与核酸污染：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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 0.06 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 10B订货信息

产品名称	货号	包装规格	储存条件
琼脂糖微球 10B	QS01064	100 mL	2 ~ 8 °C
琼脂糖微球 10B	QS01064-500	500 mL	2 ~ 8 °C
琼脂糖微球 10B	QS01064-1000	1000 mL	2 ~ 8 °C

注：系列货号为 QS01064，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 —