



CM Sepharose 6FF 预装柱说明书

货号：YA2551

规格：1*1mL / 1*5mL / 5*1mL / 3*1mL+1*5mL / 5*5mL

保存：2-8°C

产品说明：

CM Sepharose 6FF 是一种弱阳离子交换树脂，离子交换基团为-O-CH₂COO⁻，本产品以高交联的6%琼脂糖为介质，可耐受较高的流速及更高的化学稳定性，适合实验室及工业大规模纯化。离子交换树脂广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的分离纯化。

表 1：介质性能参数

基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
离子交换类型	弱阳离子
离子载量	约 0.09-0.13mmol H ⁺ /ml 介质
粒径 (μm)	45-165
建议流速	300-600cm/h
pH 稳定范围	4-13
储存缓冲液	20%乙醇

纯化流程：

1、Buffer 的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22μm 或 0.45μm 滤膜过滤。

所使用的平衡液和洗脱液，根据不同离子交换填料自行选择基。本原则是低盐上样，高盐洗脱。

2、样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22μm 或 0.45μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3、样品纯化

预装柱产品，可以用各种常规的中低压色谱系统，以 AKTA 仪器使用为例介绍 CM Sepharose 6FF 预装柱使用方法。

1) 水洗：将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中。再折断下口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。

2) 平衡：使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。

3) 上样：利用泵或样品环上样。

注：样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。

4) 洗杂：用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积），洗杂流速与平衡时一致即可。

5) 洗脱：用洗脱液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5 倍柱体积洗脱液就足够了。梯度洗脱可以用 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。

6) 水洗：用 2-3 倍柱体积的 1M NaCl 溶液甚至更高离子强度溶液或高 pH 溶液清洗，然后用 5-10 倍柱体积的去离子水冲洗填料，最后再用 5 倍柱体积的 20%的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20%的乙醇中，置于 4℃ 保存，防止填料被细菌污染。

4、SDS-PAGE 检测

将纯化过程中收集的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

5、填料清洗

离子交换树脂可以重复使用而无需再生，但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，这时可按照下面方法对树脂进行清洗。

去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法

用 2 倍柱体积的 1M NaOH 溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 3-4 倍柱体积的 1% Triton X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

备注：备注：20%乙醇可以防止微生物的生长，20%乙醇保存的介质储存在 2-8℃。

常见问题

问题	原因分析	原因分析 推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	进行树脂清洗
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜 (0.22 或 0.45 μm) 过滤，或者离心去除。
洗脱样品较杂	树脂重复多次使用	进行树脂清洗或更换新树脂
	洗杂不充分	增加洗杂液体积，确保树脂充分平衡 /洗杂
	样品带电性能相似	优化洗脱条件