

MMC 6HF 使用说明书

为确保产品的性能和无忧的操作，使用前请仔细阅读本手册，有任何疑问请咨询本公司售后技术支持或当地的销售人员。

1. 产品介绍

MMC 6HF 是一种多模式耐盐生物分离介质，适用于蛋白、多肽、核酸等所有带电的生物分子的组群分离、中度纯化。

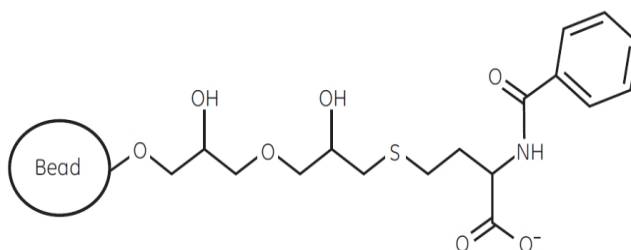


图1：MMC 6HF的配基是一种多模式配基，它与目标分子存在许多类型的相互作用，主要是离子作用，其次是氢键作用和疏水作用等。

特点如下：

- a. 在高电导条件下结合带电分子，样本不再受电导的限制，样本不需要前处理就可进行离子交换。
- b. 处理样本体积大。

C.和传统离子交换介质相比，具有新的选择性。

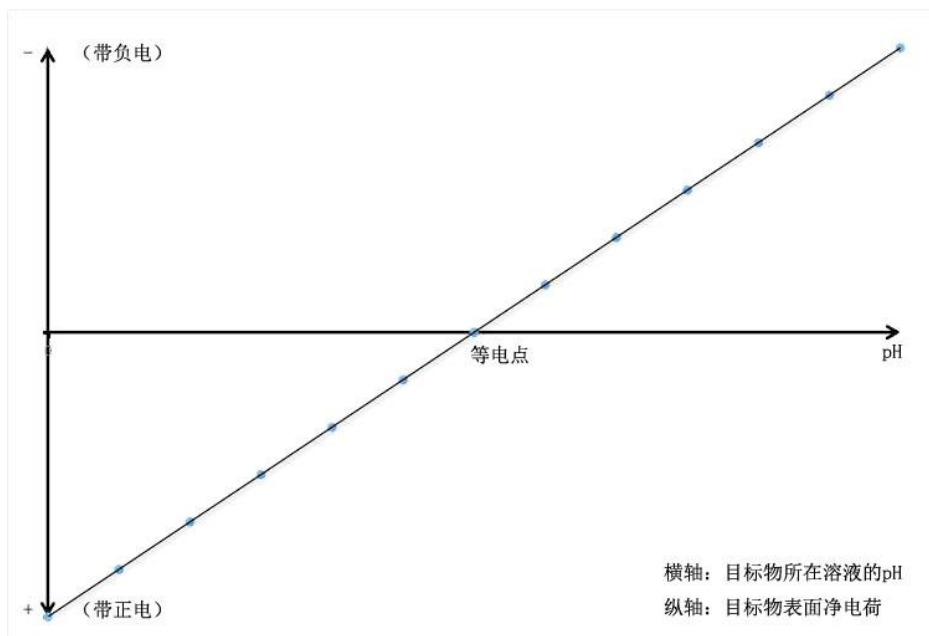
表1：性能参数

名称	MMC 6HF
基质	高度交联 6%琼脂糖
粒径范围	45-165 μm
平均粒径	90 μm
介质类型	弱阳离子交换
离子载量	70-90 $\mu\text{mol H}^+/\text{ml}$ 介质
pH 稳定性	2-14 (短期) 3-12 (长期)
操作压力	$\leq 0.3\text{MPa}$
最大流速	300-600 cm/h
化学稳定性	所有常用缓冲液、1.0M 氢氧化钠、8M 尿素、6M 盐酸胍、70%乙醇 避免使用氧化剂、阳离子去污剂、阳离子缓冲液
贮存溶液	20% 乙醇
贮存温度	4-30 $^{\circ}\text{C}$



2. 离子交换介质的选择

图2：离子交换介质的选择



说明：

- 当目标物所在溶液的pH < 目标物的等电点时，选择阳离子交换介质。
- 当目标物所在溶液的pH > 目标物的等电点时，选择阴离子交换介质。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH、盐的种类、盐的浓度必须能维持目标物的活性，避免目标物过酸/过碱水解、沉淀等情况。

3. 缓冲溶液的选择

表2：阳离子交换缓冲液

pH 范围	缓冲盐	浓度 (mM)	平衡离子	pKa(25°C)
2.6-3.6	Citric acid	20	Na ⁺	3.13
3.3-4.3	Lactic acid	50	Na ⁺	3.86
4.3-5.3	Acetic acid	50	Na ⁺ 或 Li ⁺	4.75
5.2-6.2	Methyl malonic acid	50	Na ⁺ 或 Li ⁺	5.76
5.6-6.6	MES	50	Na ⁺ 或 Li ⁺	6.27
6.7-7.7	Phosphate	50	Na ⁺	7.20
7.0-8.0	HEPES	50	Na ⁺ 或 Li ⁺	7.56
7.8-8.8	BICINE	50	Na ⁺	8.33



说明：

- a. 必须严格按照表2的要求选择缓冲溶液的种类和浓度。
- b. 错误的缓冲液（种类和浓度）会干扰分离效果，具体体现在影响分离度、离子交换介质的载量、分离纯化过程中的pH波动等。
- c. 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。
- d. 所有缓冲液试剂必须使用分析纯或者更高纯度的试剂。
- e. 在溶液配制后，须经过滤（粒径 $\leq 45\mu\text{m}$ 用 $0.22\mu\text{m}$ 过滤、粒径 $\leq 165\mu\text{m}$ 用 $0.45\mu\text{m}$ 过滤、粒径 $\leq 300\mu\text{m}$ 用 $0.8\mu\text{m}$ 过滤，避免堵塞离子交换介质）和脱气处理（影响分离效果）。

4. 样品的制备

- a. 用合适的高浓度的缓冲液（参考表2）滴定样品，使其pH低于目标分子pI 0.5至2.0个单位。
- b. 样品过滤（粒径 $\leq 45\mu\text{m}$ 用 $0.22\mu\text{m}$ 过滤、粒径 $\leq 165\mu\text{m}$ 用 $0.45\mu\text{m}$ 过滤、粒径 $\leq 300\mu\text{m}$ 用 $0.8\mu\text{m}$ 过滤，避免堵塞离子交换介质）。

备注：不建议直接用强酸或强碱调整样品溶液的pH，可能会出现目标物的降解和失活。

5. 纯化方式的选择

按洗脱条件可以分为：等度洗脱（不需要精密的层析设备）和线性梯度洗脱*（精密的层析设备有利于分辨率的提高）。

备注：基于配基的类型，建议不要仅通过改变盐浓度进行线性梯度洗脱）。

6. 清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性蛋白、脂类等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量、流动性、柱效等）。

建议每使用 5 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

- a. 用 10 倍柱体积的高离子强度的洗脱液(20mM PB、2M NaCl, pH7.5)冲洗后，再用 10 倍柱体积纯化水冲洗。

备注：用于去除强离子结合物质。

- b. 用 10 倍柱体积 1M NaOH 冲洗后，静置 1-2 小时，再用纯化水冲洗至中性。

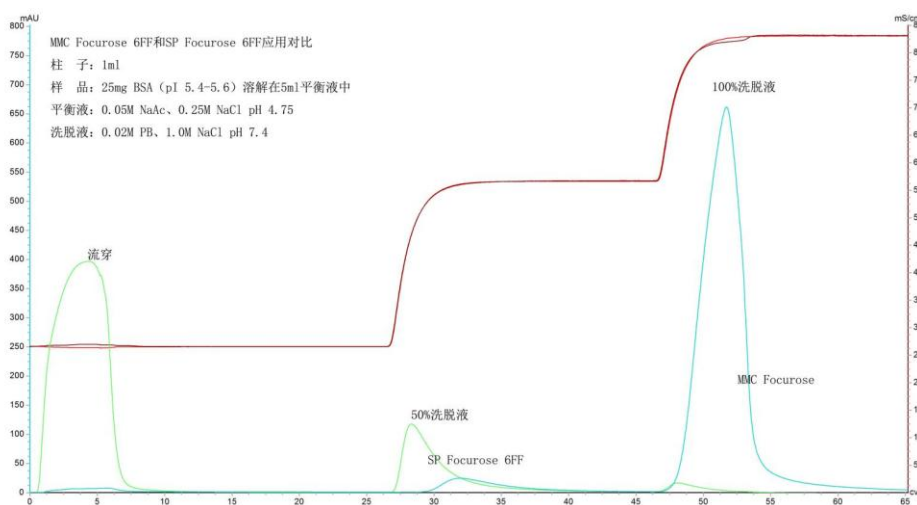
备注：用于去除聚集在介质中的蛋白质沉淀、脂类和变性物质。

- c. 用 5-10 倍柱体积的 20%乙醇冲洗后保存。

备注：20%乙醇可以防止微生物的生长，20%乙醇保存的介质可以在 4-30°C（4-8°C更佳）保存。

7. 复合型介质和传统离子交换介质在高电导条件下蛋白结合情况应用对比





结论：样品中存在一定浓度盐分时，目标分子与 MMC Focurose 6HF 结合不受影响。

8. 常见问题

表3：常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	1.上样量过载	降低上样量
	2.上样速度过快	降低上样流速
	3.蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质或更换新的介质
	4.目标物不带电或与介质带同样的电荷	筛选合适的结合缓冲液
	5.样品中加入了不合适的去污剂	检查样品中是否有不合适的去污剂
洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物	1.目标物没有与介质结合或结合量较少	先确认目标物是否与介质结合
	2.洗脱条件不合适	洗脱液洗脱能力不够，调整洗脱液pH或加大盐浓度
	3.洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	4.洗脱体积过小	加大洗脱体积
	5.目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀	检测目标物在洗脱液条件（盐浓度和pH）下的溶解度和稳定性。
目标物纯度较低	1.样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	2.样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低粘度。



	3.洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4.杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5.洗脱条件不佳	优化洗脱条件
	6.目标物出现降解	检测目标物的稳定性
	7.柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	8.分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	9.介质中有微生物生长	介质使用完后，请及时正确保存介质
介质载量下降	1.上样速度过快	降低上样流速
	2.蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降。	及时清洗介质
	3.使用次数过多，配基被氧化或脱落	及时清洗介质或更换新介质
色谱峰上升缓慢	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2.蛋白沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性和介质的结合效率
	3.分离柱中微生物生长	所用试剂必须经过过滤和脱气；样品上柱前必须离心或过滤

9. 订购信息

表4：订购信息表

产品	规格(ml)	货号
离子交换凝胶MMC 6HF	25	HY1005-4
离子交换凝胶MMC 6HF	100	HY1005-4
离子交换凝胶MMC 6HF	500	HY1005-4
离子交换凝胶MMC 6HF	1000	HY1005-4

备注：大规格包装产品或其它产品购买，请咨询本公司当地销售或售前技术支持。

