

亲和层析填料 IgM 6HP 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

IgM 6HP 纯化原理是利用电子供体和电子受体之间的相互作用（高盐加强、低盐减弱）来分离纯化生物分子，适用于分离纯化杂交瘤细胞培养上清的单克隆抗体或人 IgM。

特点如下：

- a. 快速、简单（一步纯化）。
- b. 载量高、流速快、易于放大。

表1：介质性能参数

基质	高度交联 6%的琼脂糖
粒径范围	25-45 μm
平均粒径	37 μm
结合载量	$\approx 5\text{mg}(\text{人 IgM})/\text{ml}(\text{介质})$
pH 稳定性	3-11(长期) 2-13(短期)
化学稳定性	所有常用缓冲溶液中稳定 30% 异丙醇、70% 乙醇、1M 醋酸、0.1M NaOH
流速	300cm/h
操作压力	$\leq 0.3\text{MPa}$
贮存溶液	20% 乙醇
贮存温度	4-8 $^{\circ}\text{C}$

备注：1.介质的结合载量会因样本的来源的变化而变化。

2. 使用（以 HT 1ml 和 HT 5ml 为例）

a. 水洗

用 5-10CV 纯化水以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)清洗介质。

备注：此步骤用于去除介质中 20%乙醇。

b. 平衡

用 5-10CV 平衡液以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)平衡介质，直至基线平稳后调零。

备注：此步骤用于平衡介质，保证介质中的溶液的组分和 pH 与样本一致。

c. 上样

在样品中缓慢加入硫酸铵固体或饱和溶液至硫酸铵浓度与平衡液一致，经过离心、过滤



(0.45um) 后以 0.2ml/min(1ml)或 1.0ml/min(5ml)进行上样，上样完成后用平衡液清洗直至基线为零。

备注：部分 IgM 的单克隆抗体结合载量很低或无结合，可以通过增加硫酸铵的浓度到 1 M 提高结合载量，但随着硫酸铵浓度的增加，更多的 IgG 会被结合上，因此避免或减少血清加入到细胞培养上清中。

d.洗脱

用 5-10CV 洗脱液以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)进行洗脱，收集洗脱液。

备注：低流速常常能增加洗脱液中目标蛋白的浓度。

e.水洗

用 5-10CV 纯化水以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)清洗介质。

备注：此步骤用于去除介质中洗脱液。

f.保存

用 5-10CV 20% 乙醇以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)清洗介质后 4-8℃ 保存。

备注：20% 乙醇可以防止微生物的生长。

g.溶液配制

平衡液：0.02M PB、0.8M (NH₄)₂SO₄，调节 pH 7.5，4-8℃ 保存。

备注：0.5 M 硫酸钾能够被用于替代硫酸铵，0.5 M 的硫酸钾可以与大部分的 IgM 单克隆抗体结合，其纯化效果与 0.8 M 的硫酸铵的纯化效果无明显差异。

洗脱液：0.02M PB，调节 pH 7.5，4-8℃ 保存。

备注：洗脱液极易滋生微生物，最好现配现用，4-8℃ 保存。

清洗液：0.02M PB、30 异丙醇%，调节 pH 7.5，室温保存。

备注：清洗液中的异丙醇的浓度不宜过高，否则将导致清洗残留下来的 IgM 沉淀。

3. 清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质，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 10-20 次后进行清洗，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 10-20 倍柱体积的纯化水冲洗。

备注：去除介质中的 20% 乙醇。

b.用 10-20 倍柱体积的清洗液（0.02M PB、30 异丙醇%，调节 pH 7.5）冲洗后，立即用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。

备注：用于去除强结合的物质或残留下来的 IgM。

c.用 10-20 倍柱体积的纯化水冲洗。

备注：用于去除清洗液。

d.用 5-10 倍柱体积的 20% 乙醇冲洗后 4-8℃ 保存。

备注：20% 乙醇可以防止微生物的生长。



4. 常见问题

表2：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.目标物和介质结合力弱	增加平衡液中(NH ₄) ₂ SO ₄ 浓度
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.洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	3.洗脱体积过小	加大洗脱体积
目标物纯度较低	1.样品没有经过前处理	上柱前必须要经过过滤
	2.样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低样品粘度和浓度。
	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.柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	6.分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	7.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，配基逐渐脱落	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.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

5. 订购信息



表3：订购信息表

产品	规格(ml)	货号
IgM 6HP	5	HZ1015-2
IgM 6HP	25	HZ1015-2
IgM 6HP	100	HZ1015-2
IgM 6HP	500	HZ1015-2
IgM 6HP	1000	HZ1015-2

