

Nanodex G-25M

产品名称	货号	规格
Nanodex G-25M 亲和层析介质	NG-BR0002	25 g
		50 g
		100 g
		500 g
		1 kg
Nanodex G-25M 预装重力柱	NG-GC0002	1mL
Nanodex G-25M 预装层析柱	NG-PC0002	1mL
		4.7mL
		5mL

本说明书适用于以上三种产品：

Nanodex G-25M 亲和层析介质 — 散装填料，适用于自行装柱/放大验证。

Nanodex G-25M 预装重力柱 — 免装柱，适合小试/捕获/教学与方法开发。

Nanodex G-25M 预装层析柱 — 免装柱，直接上系统用于常规纯化。

01 产品简介

Nanodex G-25M 是一款以交联葡聚糖为基质的凝胶过滤（体积排阻）层析介质，采用中等粒径设计，在通量、分辨率与压降之间取得平衡。它基于分子在溶液中的水动力半径/分子量差异进行分离，不依赖特异性相互作用、条件温和，特别适用于脱盐、缓冲液置换、去除小分子抑制剂/染料等常规抛光步骤；亦可用于多肽等小分子物质的初步分离。介质可用于重力柱或泵控低/中压系统，便于从小试到中/大试的流程迁移。

产品优势：

效率与分辨率平衡：中等粒径带来更稳健峰形与较低带展宽，在常规脱盐/置换中获得清晰分离窗口。

放大友好、压降低：交联骨架刚性好，可在较低反压下运行，支持更高线速度与更大处理体积，线性放大容易。

通用性强、条件温和：体积排阻机理不需配体，与常见缓冲体系兼容，对蛋白/抗体、核酸与多肽等样品温和且保护活性。

重复性与稳定性好：颗粒均一、批间一致性高；基质化学稳定，便于 CIP 与长期复用。

02. 技术参数

表 1 产品参数表

名称	性能
层析介质类型	凝胶过滤层析介质
基架	交联葡聚糖
分离范围	1 kD~5 kD
主要粒径 分布*	100~300 μm 50~150 μm 20~80 μm 20~50 μm

名称	性能
推荐工作流速	300 cm/h 150 cm/h 100 cm/h 80 cm/h
溶胀系数	4-5 ml/g
耐压	0.3 MPa
使用温度	4-30 °C

*干粉状态下测量，分布在范围内的百分比≥80%

03 化学稳定性

表 2 化学耐受性表

耐受类别	耐受范围及表现
pH 稳定性	pH 2.0~13.0 (40°C放置 7 天, 其理化性质和功能没有明显变化)
试剂兼容性	常见水溶液、30%异丙醇、75%乙醇、1M NaOH、1M 乙酸、6M 盐酸胍、8M 尿素

04 纯化流程

4.1 前期准备

装柱所需用品 (装填层析柱所需用品)

1. 层析介质: Nanodex G-25M
2. 层析空柱: 实验室规模层析空柱及装柱器
3. 所需溶液: 纯化水; 排气溶液同上
4. 装柱工具: 砂芯漏斗、搅拌棒、量筒等

纯化用品准备

1. 缓冲液: 为确保样品稳定性, 应优先评估其在所用缓冲体系中的表现; 为降低潜在的非特异吸附, 建议使用含一定离子强度的缓冲液而非纯水。若进行缓冲液置换或脱盐, 则上样与洗脱均直接使用目标缓冲液, 避免二次更换。
2. 上柱前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 可以用平衡缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用平衡缓冲液透析。样品在上样前建议离心或用 0.22 或 0.45 μm 滤膜过滤, 减少杂质, 提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

4.2 重力柱装填与纯化

重力柱装填 (购买散装填料可参考本流程装填重力柱)

1. 取合适规格的重力层析柱, 装入下垫片, 加入适量纯水润洗柱管和垫片, 关闭下出口。
2. 将 Nanodex G-25M 混合均匀, 用枪头吸取适量浆液加入至重力柱中 (介质实际体积占悬液的一半), 打开下出口流干保护液。
3. 加入适量纯水冲洗介质, 待柱管中液体重力流干后, 关闭下出口。
4. 装入润洗后的上垫片, 确保垫片与填料之前没有空隙, 且保持水平。

5. 装填好的重力柱可以直接加入平衡液进行平衡，暂不使用时则加入保护液，4-30°C保存。

重力柱纯化 (重力柱纯化的参考流程)

1. 平衡：使用 5 倍柱体积的平衡缓冲液对装填好的 Nanodex G-25M 重力柱进行平衡。此过程应重复 2 至 3 次，确保填料完全处于与目的蛋白一致的缓冲液环境中。
2. 上样：将样品加入已平衡的重力柱，控制流速确保样品在柱内的保留时间不少于 2 分钟，以保证与填料的充分接触。收集流穿液，为提升结合效率，可进行反复上样。
3. 洗脱：使用缓冲液洗脱，收集不同位置出峰的组分，通常需要 1~1.5 倍柱体积。
4. 再生：用含有高盐缓冲液(如 1M NaCl)冲洗层析柱。
5. 再平衡：用平衡缓冲液再次平衡层析柱。

4.3 层析柱的装填与纯化

层析柱的装填 (购买散装填料可参考本流程装填层析柱)

装柱前的准备:

1. 将干粉层析介质按照 4~6 ml 纯化水/g 的比例加入纯化水，室温下溶胀 4 个小时以上。
2. 计算所需介质体积:

$$V_m = \text{柱横截面积} \times \text{计划柱床高度} \times \text{介质压缩比};$$

建议压缩比：纯化水：1.15

3. 介质置换：用约 3 倍体积的装柱溶液清洗、抽滤，将介质完全置换到装柱溶液中。
4. 制备 50-60% 胶悬液；为获得准确体积，可沉降过夜或低速离心 (3000 rpm, 5 min) 后量取。
5. 检查空柱：干净、无漏液。

装柱

1. 用纯化水为柱底滤膜排气；随后封闭柱底并加入少量纯化水覆盖柱底。
2. 调整层析柱至垂直；连接柱头，以 ~5 mL/min 低流速为柱头滤膜排气。
3. 轻轻搅拌均匀胶悬液，一次性缓慢倒入空柱中（胶悬超出柱容积时，可用装柱器或接延长管）。
4. 放入排气后的柱头并贴合液面，排尽气泡后拧紧密封圈。
5. 启动系统泵，调整流速至 300 cm/h，使用液流压紧柱床。期间要控制压力不能超过 0.3 MPa。如超压，需要降低流速。
6. 柱床稳定后标记胶面高度，停泵将柱头下压至标记以下 3-5 mm，再启动流速；若胶面不再下降，即装柱完成。
7. 建议工作流速 ≤ 装柱流速的 75%。

表 3 不同规格层析柱流速换算表

线性流速(cm/h)	10 mm (ml/min)	16 mm (ml/min)	26 mm (ml/min)	50 mm (ml/min)
60	0.8	2	5.3	19.6
100	1.3	3.3	8.8	32.7
150	2	5	13.3	49.1
200	2.6	6.7	17.7	65.4

线性流速(cm/h)	10 mm (ml/min)	16 mm (ml/min)	26 mm (ml/min)	50 mm (ml/min)
300	3.9	10	26.5	98.1
600	7.9	20.1	53.1	196.3

柱效测定

选择 所示的两种测试方法中的一种进行柱效测试。使用流动相平衡层析柱至基线平稳，将样品加载到层析柱中，继续使用流动相进行冲洗，待色谱峰出完至回到基线后，结束运行，对色谱峰进行积分，评价装柱果。

表 4 两种柱效测定方法

项目	丙酮法	NaCl 法
样品	1% (v/v) 丙酮水溶液	2 M NaCl 水溶液
样品体积	1% 柱体积	1% 柱体积
流动相	水	0.2 M NaCl 水溶液
流速	30 cm/h	30 cm/h
检测器	UV 280 nm	电导率

柱效评价的主要指标：塔板数 N/m 与不对称因子 A_s 。其计算方式：

$$N/m = 5.54 \times (V^R / W_h)^2 \times 1/L$$

$$A_s = b / a$$

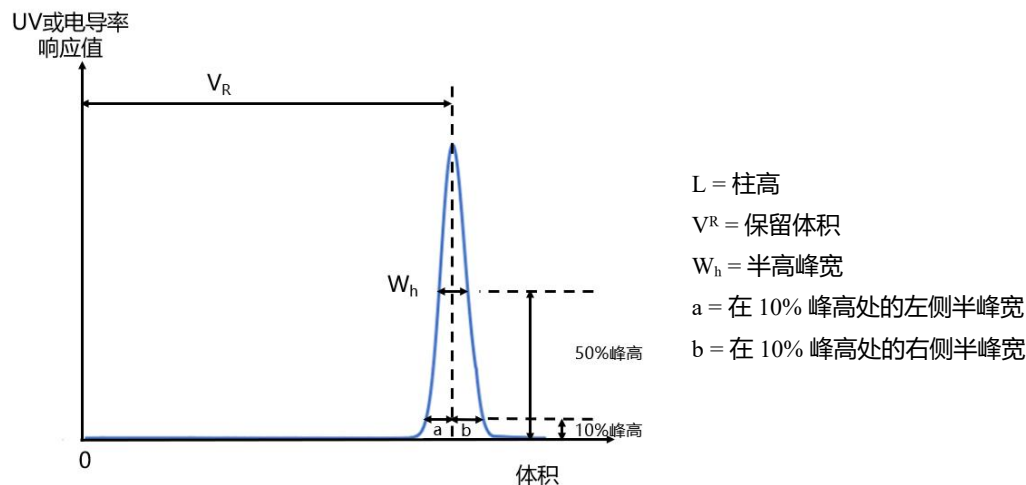


图 5 标准柱效测试色谱图

柱效评估标准

1. 柱效良好的层析柱，其理论塔板高度 HETP 的数值应小于介质平均颗粒大小的三倍；
2. 检测峰形必须对称，非对称因子数值 A_s 应在 0.8~1.5 之间，越接近 1 柱效越好；
3. 如柱效检测不达标，则需重新装柱。

层析法纯化（层析柱纯化的参考流程）

Nanodex G-25M 装填后，可适配各类常规中低压色谱系统。

1. 将泵管道注满去离子水。取下层析柱上塞，将其连接至色谱系统，打开下出口并旋紧。
2. 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗，以置换出填料中的储存缓冲液。
3. 平衡：使用至少 5 倍柱体积的平衡缓冲液冲洗至基线稳定。
4. 上样：通常组分分离的上样量不超过柱体积的 30%，分离纯化的上样量不超过柱体积的 5%，样品浓度不宜过高，避免超压与分辨率下降（建议预过滤/脱气）。
5. 洗脱：使用缓冲液洗脱，按峰形分段收集，通常需要 1~1.5 倍柱体积。
6. 再生：以高盐缓冲液（如 1 M NaCl）冲洗柱床，去除非特异吸附与残留。
7. 再平衡：用平衡缓冲液再次平衡（≥5 柱体积），即可进行下一次分离或按要求保存。

05 清洗与再生（CIP）

随使用次数增加，脂质、内毒素、蛋白质等污染物会在层析柱上逐渐累积。为维持柱性能并延长其使用寿命，建议定期执行以下在位清洗流程：

1. 结合力较强蛋白的去除：用 5 倍柱体积的 2M NaCl 溶液清洗，也可使用不低于 pH2 的高盐缓冲液，如 1M NaAc 溶液
2. 强疏水性蛋白、沉淀蛋白的去除：先用 5 倍柱体积的 1M NaOH 溶液清洗，然后用 5-10 倍柱体积的纯化水将碱液清洗干净
3. 脂蛋白和脂类物质的去除：先用 5 倍柱体积的 70% 乙醇或 30% 异丙醇清洗，然后用 5-10 倍柱体积的纯化水冲洗干净

后续的灭菌与储存条件：可采用 0.2 M NaOH 作用 30-60 分钟；若为已装填的层析柱，可使用 20% 乙醇作为保存液，并于 4-30 °C 条件下储存。

06 常见问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	筛板堵塞	清洗筛板或直接更换新筛板。
	填料堵塞	按第 5 部分执行树脂 CIP 清洗，恢复通透性。
	裂解液含微粒	上柱前以 0.22 或 0.45 μm 滤膜过滤，或离心去除悬浮颗粒。
纯化过程中曲线不稳定	样品/缓冲液夹带气泡	排除柱内气泡；必要时对样品与缓冲液脱气。
洗脱组分无目的蛋白	样品中抗体浓度偏低	选用以其抗原为配体的亲和介质进行捕获。
	抗体发生降解	适度提高洗脱阶段的 pH（按工艺窗口），以改善结合/洗脱。

回收率逐步下降	上样量过大	降低上样量，避免超载。
	柱床鼓胀（“大肚”），有效载量下降	按第 5 部分进行树脂 CIP 清洗以恢复柱效。

注意：本产品仅供科研使用（RUO），不得用于人体诊断或治疗。