

## U639195 超滤离心管操作说明

### 预清洗:

本离心过滤器的 PES 膜含有微量的甘油及保护剂, 为避免干扰分析, 使用前通过过滤 15 mL 去离子水或缓冲液通过膜并重复进行来去除它们。 如果需要进一步冲洗, 从 0.05N NaOH 开始并重复此过程。离心过滤器一旦润湿, 就需要保持湿润状态, 直到使用完毕。

### 使用说明:

1. 取下盖子, 将不超过 15mL 的样品移入样品槽中, 并盖上盖子以防止离心过程中蒸发。
2. 将过滤器放入可容纳 50 mL 锥形管的离心机中。 始终使用另一个含有等量样品体积的离心过滤器来平衡转子。
3. 以推荐的力量旋转设备所需的时间。超滤: 以 1,000 至 5,000 xg 的速度旋转, 通常旋转 20 至 60 分钟, 以达到所需的浓缩体积。建议为每个应用确定旋转时间和重力。
4. 如要回收浓缩后的溶质, 在过滤装置底部插入一个移液管, 然后左右摇摆着吸取样本, 以确保完全回收。超滤液可以保存在离心管中。说明: 要想达到理想回收, 离心后请立即取走浓缩后样本。

### 非特异性吸附:

PES 膜具有低生物分子结合率, 并且有出色的生物和化学耐受性。在纯化微克或纳克水平的蛋白质时, 设备组件的吸附是特别值得关注的。即使使用本离心过滤器中使用的低吸附性塑料, 特别“粘性”的蛋白质和生物分子也可能发生一些吸附。预处理本离心过滤器可以进一步减少过滤器的非特异性吸附。

1. 用 15 mL 的 10% 甘油填充样品容器。
2. 室温浸泡过夜。
3. 用去离子水冲洗设备。
4. 用 15 mL 去离子水填充样品容器并旋转重复。

### 除盐或渗滤:

1. 将样品浓缩至少十倍 (例如, 将 15 mL 浓缩至 1.5 mL)。
2. 用交换缓冲液复溶并再浓缩十倍。
3. 重复此程序 3 到 5 次以去除 95 到 99% 的盐或缓冲液。

## 注意事项

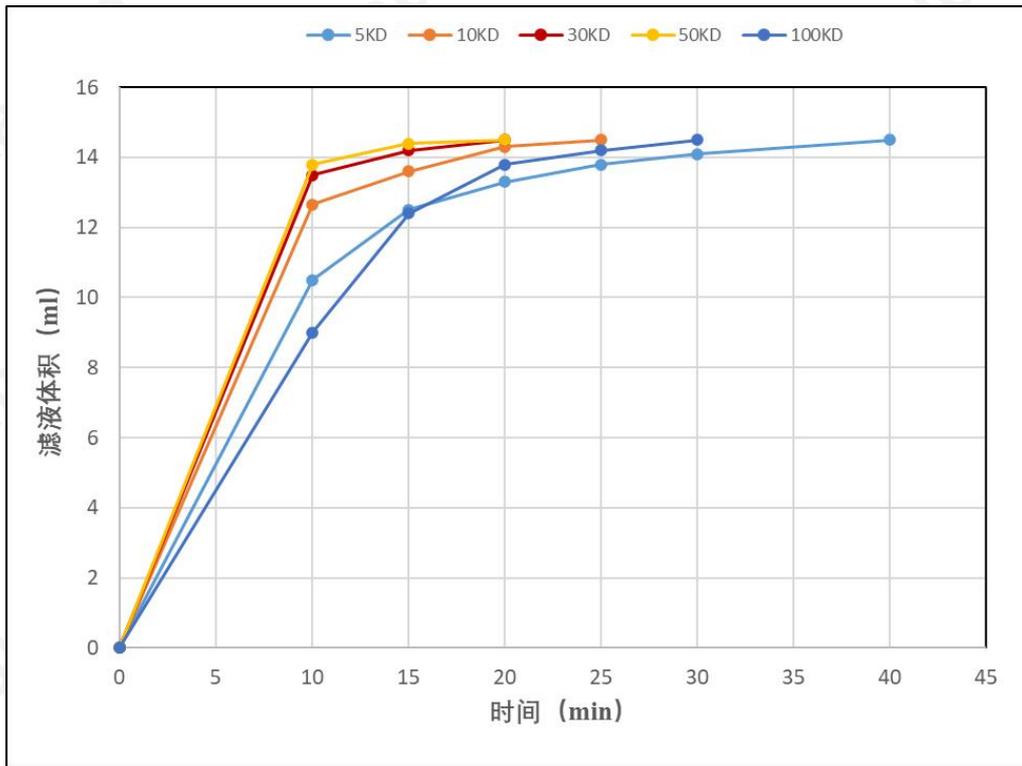
- 1、15ml 超滤离心管为未消毒的一次性产品, 若发现破损, 请勿使用。
- 2、15ml 超滤离心管仅限科研使用, 不用于体外诊断。
- 3、为确保样本适配性, 初次使用建议进行预实验, 测试回收及截留效率。

## 性能

### 过滤速度:

影响过滤速度的因素包括样本的浓度、起始体积、溶质的化学性质、相对离心力、离心转子的角度、滤膜类型、有效过滤面积以及温度等。

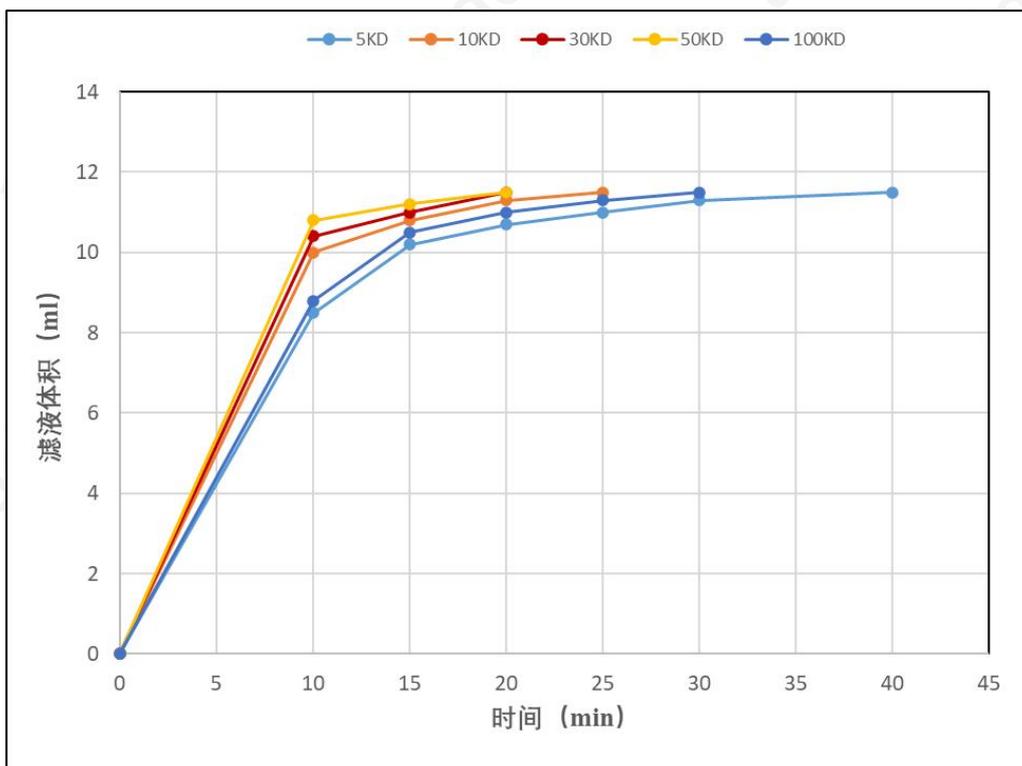
图 1. 滤液体积与离心时间的关系（水平转子）



离心力：4000xg，8℃，起始体积 15mL。

超滤离心样本：5KD 用 0.25mg/mL Cyt C，10KD 用 1mg/mL OVA，30KD 和 50KD 用 1mg/mL BSA，100KD 用 1mg/mL IgG。

图 2. 滤液体积与离心时间的关系（固定角转子）



离心力：5000xg，8℃，起始体积 12mL。

超滤离心样本：5KD 用 0.25mg/mL Cyt C，10KD 用 1mg/mL OVA，30KD 和 50KD 用 1mg/mL BSA，100KD 用 1mg/mL IgG。

### 回收率：

15ml 超滤离心管滤膜的截留能力由截留分子量（MWC0）描述。对于接近 MWC0 的溶质分子量可能只有部分被截留，为了获得最佳的截留特性，请使用比溶质分子量小三倍及以上的 MWC0 滤膜。

蛋白质浓度	蛋白分子量	MWC0	水平转子收率	固定角转子收率	离心时间
Cyt C(0.25mg/ml)	12,400	5KD	>90%	>90%	30 min
OVA(1mg/ml)	45,000	10KD	>90%	>90%	30 min
BSA(1mg/ml)	67,000	30KD	>90%	>90%	30 min
IgG(1mg/ml)	156,000	50KD	>85%	>85%	30 min
IgG(1mg/ml)	156,000	100KD	>80%	>80%	30 min

## 化学相容性

离心过滤器适用于生物液体及水溶液。使用前，请检查样本与装置的化学相容性。

超滤离心过滤器的化学相容性

酸	浓度	浓度	浓度
氨基磺酸	≤5%	硝酸	≤10%
甲酸	≤5%	乳酸	≤5%
乙酸	≤25%	磷酸	≤30%
盐酸	≤1M	三氟乙酸（TFA）	≤10%
硫酸	≤3%	三氯乙酸（TCA）	?

### 碱

氢氧化钠	≤2M	氢氧化铵	?
------	-----	------	---

### 醇

甲醇	≤60%	异丙醇	≤70%
乙醇	≤70%	正丁醇	≤70%

### 洗涤剂

Triton® X-100 表面活性剂	≤0.1%	CHAPS 洗涤剂	≤0.1%
Tween® 20 表面活性剂	≤0.1%	Lubrol® PX 洗涤剂	≤0.1%
十二烷基硫酸钠（SDS）	≤0.1M	Tergazyme®洗涤剂	≤1%
Nonidet™-P 40 表面活性剂	≤2%	脱氧胆酸钠	≤5%
Alconox®洗涤剂	≤1%		

### 有机溶剂

苯	不建议使用	乙酸乙酯	不建议使用
丙酮	≤10%	吡啶	不建议使用
乙腈	≤10%	三氯甲烷	不建议使用

甲苯	不建议使用	四氯化碳	不建议使用
甲醛	≤30%	四氢呋喃	不建议使用
二甲亚砜 (DMSO)	≤5%		
其他			
苯酚	?	咪唑	≤500mM
丙三醇	≤70%	尿素	≤8M
二硫苏糖醇 (DTT)	≤0.1M	巯基乙醇	≤0.01M
焦碳酸二乙酯	≤0.2%	三羟甲基氨基甲烷缓冲剂 (pH 8.2)	≤1M
聚乙二醇	≤10%	碳酸钠	≤20%
磷酸盐缓冲液 (pH8.2)	≤1M	盐酸胍	≤6M
硫酸铵	饱和的		