

超滤离心管 用户指南



产品信息

产品描述

超滤离心管可快速高效实现生物样本的浓缩与纯化，目前有0.5mL、4mL和15mL三种规格可提供。独特的竖式设计及最大化过滤面积能提供快速的样本处理和较高的样本回收率(通常大于90%稀薄的初始溶液),同时保持温和的浓缩环境以保持蛋白的活性和构象。竖式设计将溶质极化和之后造成的滤膜结垢降至最低,过滤装置中的物理止滤点防止过滤器旋转过度使样本干燥和造成样本损失,其中0.5mL超滤离心管通过反向旋转快捷操作高效稳定回收浓缩样品。超滤离心管采用了PES膜,该膜的蛋白质和核酸结合率非常低。

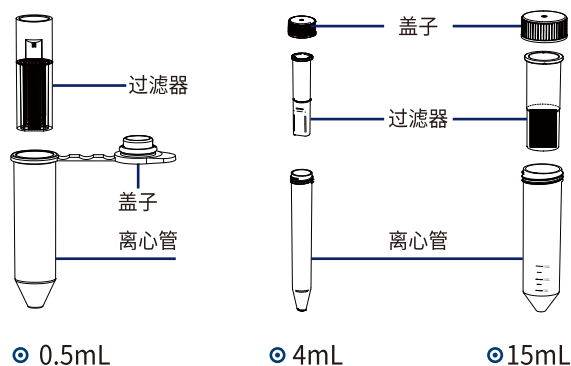


产品特点

- 截留精度高,低蛋白吸附,高回收率>90%
- 双面垂直膜设计,防止膜堵塞、超低滞留体积、高离心效率
- 卓越的生物相容性和安全性,萃取物极少,经USP87认证
- 防滤干锁止设计,避免过度离心对样本损伤,确保实验结果稳定可靠
- OEM定制

产品结构

超滤离心管包括盖子、过滤器和离心管。



产品应用

>> 超滤:

- 浓缩和脱盐蛋白质、核酸
- 缓冲液置换或色谱组分除盐
- 从培养基中收获生物分子
- 病毒浓缩或分离
- 生物分子混合物粗分离
- 细胞裂解物中碎片和颗粒去除

>> 微滤:

- 从琼脂糖凝胶中分离DNA
- 从聚丙烯酰胺凝胶中分离蛋白质、寡核苷酸和RNA
- HPLC分析前的样品澄清
- 过滤生物样本
- 收集和清洗处理过的颗粒或珠子



技术参数表

产品目录	0.5mL	4mL	15mL
过滤器	PC(聚碳酸酯)/K树脂(丁苯透明抗冲树脂)		
滤膜	PES(聚醚砜)		
滤出液管	PP(聚丙烯)		
滤出液盖子和衬里	PP(聚丙烯)		
有效过滤面积	0.9cm ²	3.5cm ²	7.2cm ²
超滤离心管尺寸(加盖)	长度(浓缩模式:过滤器正插在外管中): 50.3mm 长度(反转离心:过滤器倒插在外管中): 46.8mm 直径: 10.9mm	总长度122mm 直径17mm	总长度117mm 直径31mm
内过滤器尺寸	长度: 29.2mm 直径: 9.4mm	长度: 67.5mm 直径: 14.5mm	长度: 75mm 直径: 28mm
滞留体积	≤5μL	≤20μL	≤30μL
锁止体积	10-20μL	50-100μL	300μL
运行温度	0-40°C		
PH范围	1-14		
最大离心力(超滤)	14000x g	水平离心4000g 定角离心6000g	水平离心 4000g (100KD 为 3000g) 定角离心 5000g (100KD 为 3000g)
最大离心力(微滤)	/	10000g	6000g
离心机类型	适合接受标准1.5/2mL 锥形管的离心机	适合接受标准 15mL 锥形管的离心机	适合接受标准 50mL 锥形管的离心机
消毒灭菌	可在使用前通过设备过滤 70% 乙醇进行消毒杀菌处理		



► 使用性能操作说明

操作说明

>> 预清洗:

本超滤离心管的超滤孔径PES膜含有微量的甘油及保护剂，为避免干扰分析，使用前通过过滤去离子水（4mL超滤离心管加4mL，15mL超滤离心管加15mL，0.5mL超滤离心管加0.5mL）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0.05mol/L NaOH开始并重复此过程。超滤离心管一旦润湿，就需要保持湿润状态，直到使用完毕。

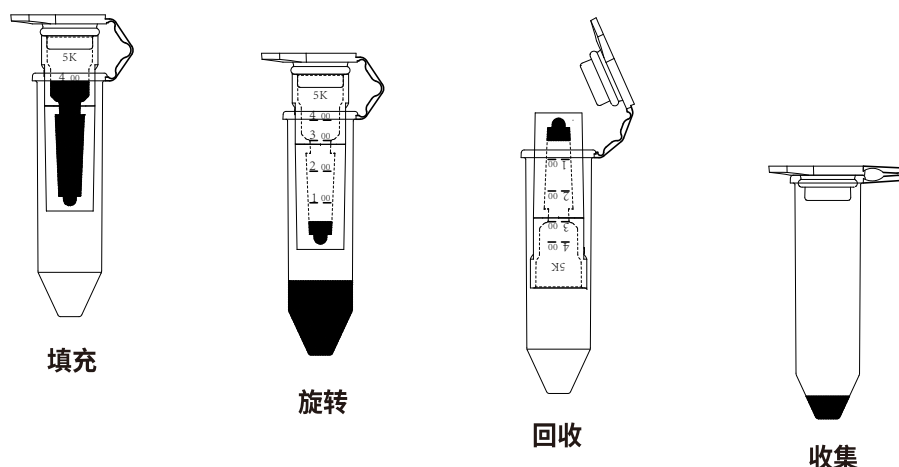


图1. 0.5mL超滤离心管使用方法

>> 4mL和15mL超滤离心管使用说明:

1. 取下盖子，将样品移入样品槽中（4mL超滤离心管不超过4.5mL, 15mL超滤离心管不超过15mL），并盖上盖子以防止离心过程中蒸发。
2. 将超滤离心管放入可容纳 15 / 50mL锥形管的离心机中。始终使用另一个含有等量样品体积的超滤离心管来平衡转子。
3. 以推荐的力量旋转设备所需的时间。超滤：4mL超滤离心管以 1000 至 6000 xg 的速度旋转，通常旋转10至60分钟，以达到所需的浓缩体积；15mL超滤离心管以 1000 至 5000 xg 的速度旋转，通常旋转10至60分钟，以达到所需的浓缩体积。微滤：4mL微滤管以2000至10000xg的速度旋转；以2000至6000xg的速度旋转。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。

>> 0.5ml超滤离心管使用说明:

1. 取下盖子，将不超过0.5 mL的样品移入过滤器中，盖上盖子以防止离心过程中溶液蒸发。
2. 将超滤离心管放入可容纳1.5 mL或2.0 mL离心管的离心机中。以不大于14000g的离心力离心10至30分钟，以达到所需的浓缩体积。建议通过预实验为每个应用确定合适的离心时间和离心力。注意：离心时请注意离心机配平！
3. 如要回收浓缩后的溶液,请将过滤器倒置在另一个干净的离心管中，放入离心机，将敞口盖对准转子中心，并注意配平。以1000g的离心力离心1至2分钟，可将浓缩液从过滤器中转移到离心管中。滤出液和浓缩液均可保存在离心管中。

非特异性吸附

PES膜具有低生物分子结合特性，并且有出色的生物和化学耐受性。但在纯化微克或纳克级别的蛋白质时，设备组件的吸附仍需特别关注。即使本超滤离心管中使用的材料为低吸附性塑料，但在浓缩或分离高“粘性”的蛋白质和生物分子时也可能发生吸附。预处理超滤离心管可以进一步减少过滤器的非特异性吸附。具体操作如下：

1. 用 10% 甘油（4mL超滤离心管加4mL，15mL超滤离心管加15mL，0.5mL超滤离心管加0.5mL）填充样品容器。
2. 室温浸泡过夜。
3. 用去离子水填充超滤离心管，静置1至2分钟后弃去管内液体，重复1至2次。
4. 用去离子水（4mL超滤离心管加4mL，15mL超滤离心管加15mL，0.5mL超滤离心管加0.5mL）填充样品容器并旋转重复，使去离子水通过滤膜，重复1~2次。

除盐或渗滤

1. 将样品浓缩至少十倍（例如将 4 mL 浓缩至 0.4 mL，将 15 mL 浓缩至 1.5 mL，将 0.5 mL 浓缩至 0.05 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. 4mL/15mL/0.5mL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. 4mL/15mL/0.5mL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。
4. 本超滤离心管不适用高温高压灭菌处理，推荐70%乙醇浸泡30min灭菌处理，其它灭菌方式存在不可控风险。
5. 本超滤离心管应匹配锥形底离心机转子使用（圆底转子需加转换垫子），避免离心管底部因受力不均变形。



性能参数

>> 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。

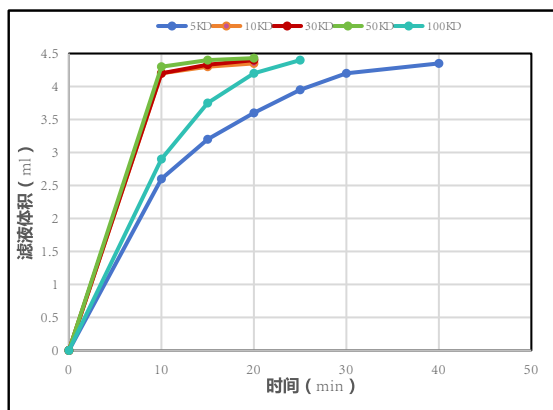


图2.4mL超滤离心管滤液体积与离心时间的关系
(摆桶式转子)

离心力: 4000xg, 8°C, 起始体积4.5mL。

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

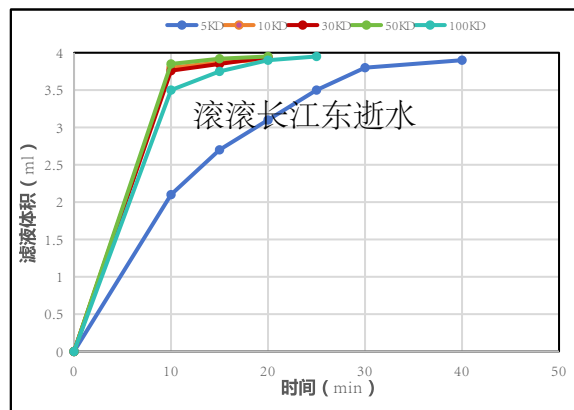


图3.4mL超滤离心管滤液体积与离心时间的关系
(定角转子)

离心力: 6000xg, 8°C, 起始体积4mL。

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

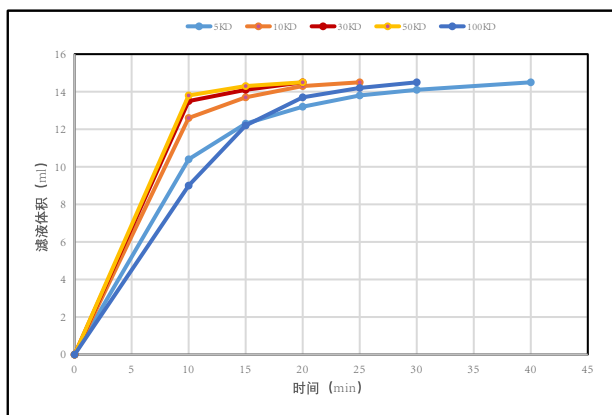


图4.15mL超滤离心管滤液体积与离心时间的关系
(水平转子)

离心力: 4000xg, 8°C, 起始体积15mL。

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

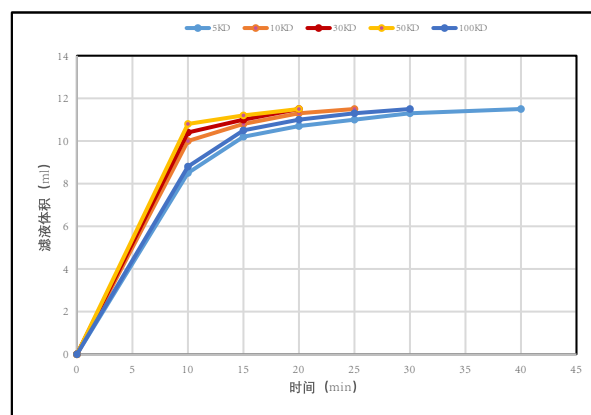


图5.15mL超滤离心管滤液体积与离心时间的关系
(固定角转子)

离心力: 5000xg, 8°C, 起始体积12mL。

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

性能参数

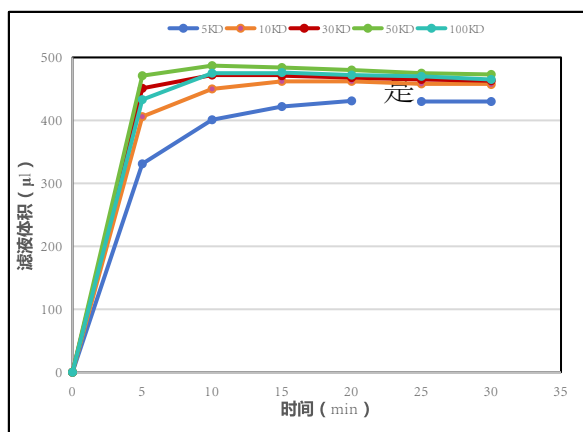


图5. 0.5mL超滤离心管滤液体积与离心时间的关系

离心力: 14000xg, 室温, 起始体积0.5mL。

超滤离心样本: 5kDa: 0.25mg/mL Cyt C; 10kDa: 1mg/mL OVA;

30kDa和50kDa: 1mg/mL BSA; 100kDa: 1mg/mL IgG, n=8。

截留率

4mL/15mL/0.5mL超滤离心管滤膜的截留能力由截留分子量 (MWCO) 描述。对于接近MWCO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MWCO滤膜。

蛋白质浓度	蛋白分子量	超滤离心管型号	截留率 (%)	离心时间(min)	
				15/4mL	0.5mL
Cyt C(0.25mg/mL)	12,400	5kDa	>95	20-30	15-20
OVA(1mg/mL)	45,000	10kDa	>95	15-30	10-15
BSA(1mg/mL)	67,000	30kDa	>95	15-20	<10
BSA(1mg/mL)	67,000	50kDa	>90	15-20	<10
IgG(1mg/mL)	156,000	100kDa	>90	20-30	<10

注: *15/4mL为水平和定角转子, 0.5mL仅为定角转子, 并且能反向离心收集浓缩样品。

测试微球	微球尺寸	微滤离心管膜孔径	截留率 (%)	离心时间(min)
聚苯乙烯	0.2μm	0.1μm	>95	5
聚苯乙烯	0.3μm	0.22μm	>95	5
聚苯乙烯	0.5μm	0.45μm	>95	5

注: 测试离心力为4000g。

化学相容性

超滤离心管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。

超滤离心管的化学相容性

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

醇	浓度
甲醇	≤60%
乙醇	≤70%
异丙醇	≤70%
正丁醇	≤70%

碱	浓度
氢氧化钠	≤0.5M (4mL/15mL规格)
氢氧化钾	≤0.1M(0.5mL规格)
氢氧化铵	≤10%

有机溶剂	浓度
苯	不建议使用
丙酮	不建议使用
乙腈	≤10%
甲苯	不建议使用
甲醛	≤5%
二甲亚砜 (DMSO)	≤5%
乙酸乙酯	不建议使用
吡啶	不建议使用
三氯甲烷	不建议使用
四氯化碳	不建议使用
四氢呋喃	不建议使用

其他	浓度
苯酚	<1%
丙三醇	≤70%
二硫苏糖醇 (DTT)	≤0.1M
焦碳酸二乙酯	≤0.2%
聚乙二醇	≤10%
磷酸盐缓冲液 (pH8.2)	≤1M
硫酸铵	饱和的
咪唑	≤500mM
尿素	≤8M
巯基乙醇	≤0.01M
三羟甲基氨基甲烷缓冲剂 (pH 8.2)	≤1M
碳酸钠	≤20%
盐酸胍	≤6M

质量标准

该产品的开发和生产等过程符合ISO9001管理体系要求。

质量保证准则

非动物来源声明

基于目前从供应商处获得的信息，该产品的所有构成部分均为非动物来源物料。

生物安全性

所有构成材料经USP<87>细胞毒性体外试验检测均为合格。

批放行准则

该产品批次按质量保证体系的原则进行测试及放行。

完整性测试

每个超滤离心管内管都进行了密封完整性保压测试。

附录

超滤离心管规范操作注意事项

1. 超滤离心管滤膜含有微量甘油等保护剂，使用前建议用纯化水或缓冲液进行预清洗处理；
2. 超滤离心管滤膜一旦润湿后，需要保持其湿润状态；
3. 超滤离心管各型号规格有推荐离心力范围，建议使用时的离心力不大于推荐的最大离心力，超过最大离心力会显著增加样品物质穿膜及漏液风险；
4. 收集浓缩样品时，选取合适的移液器（枪头能深入到超滤离心管内管底部），先轻柔的吹打混匀浓缩液，再将移液器插入超滤离心管内管底部将浓缩液完全吸出；
5. 需要较快时间内处理完样品，则建议以接近最大推荐离心力进行离心处理，需要高回收率则可适当降低离心力且最终浓缩体积不易过小（浓缩体积过小会显著降低回收率）；
6. 超滤离心管单次上样处理量不超过推荐最大量上限，超过上限会造成样品离心过程溢出风险，从而降低回收率；
7. 单次离心时间不易过长，避免因过度离心造成样品回收率低；
8. 选择合适KD型号超滤离心管也是保证样品回收率的重要因素，小体积样品选择小规格超滤离心管，大体积样品选择大规格超滤离心管。

超滤离心管常见使用FAQ

>> Part I: 产品知识

Q: 超滤离心管都有哪些用途？

A: 超滤离心管可以用于生物样品（蛋白，核酸，病毒等）的浓缩，脱盐，或者更换缓冲液。

Q: 超滤离心管有哪些规格？

A: 超滤离心管提供三种样本体积的规格：0.5 mL, 4 mL & 15 mL，每种规格都含有5种标称截留分子量：5kDa, 10kDa, 30kDa, 50kDa, 100kDa。如果处理更大体积的样本，欢迎咨询技术支持。

Q: 超滤离心管的膜材质是什么？

A: 超滤离心管的膜材质为PES膜。

Q: 超滤离心管的化学相容性如何？

A: 超滤离心管适用于一般的水溶液或生物样品，管殊样本的化学相容性请参考本文件中化学兼容性表格。

Q: 我可以重复使用超滤离心管么？

A: 所有的超滤离心管都是一次性的，不推荐重复使用。

Q: 超滤离心管可耐受的pH值范围是多少？

A: 对于PES超滤膜，说明书中所推荐的pH范围为1-14。具体酸碱类型及浓度请参考说明书中的化学兼容性表。

>> Part II: 产品选择

Q: 我该如何选择合适的装置用于蛋白的浓缩?

A: 一般我们推荐选择的超滤离心管的标称分子量为目标蛋白的1/3以内。

Q: 如果要用超滤的方法分离两种蛋白, 那么这两个蛋白的大小需要相差多少?

A: 按照经验, 我们推荐两个蛋白的分子量要相差一个数量级 (10倍)。

Q: 超滤离心管可以用于病毒浓缩么?

A: 可以。对于慢病毒, 我们推荐100kDa MWCO; 对于腺病毒, 推荐 50kDa MWCO。

Q: 超滤离心管可以用于纳米颗粒纯化与浓缩么?

A: 可以。虽然我们没有内部数据支持这一应用, 但是有很多客户超滤离心管用于纳米颗粒的浓缩及纯化, 并获得很好的结果。超滤离心管的标称分子量对应的膜孔径范围请参考右图:

Nanoparticles	
1.5 < dia < 3 nm	3,000
3 < dia < 5 nm	10,000
5 < dia < 7 nm	30,000
7 < dia < 10 nm	50,000
10 nm < dia	100,000

Q: 超滤离心管可以用于外泌小体的纯化与浓缩吗?

A: 可以。外泌小体的直径在30-100nm左右, 推荐50-100kDa进行浓缩

>> Part III: 实验操作

Q: 如果使用超滤离心管, 要配什么样的离心转子, 最大离心力是多少?

A: 具体参数请参考下表:

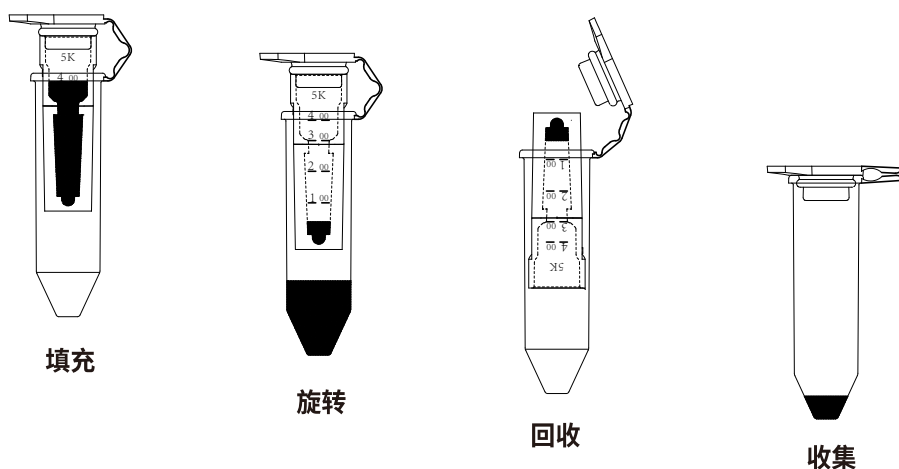
离心机转子类型		标准1.5/2ml离心管 (0.5mL超滤管)	标准15ml锥形离心管 (4mL超滤管)	标准50ml锥形离心管 (15mL超滤管)
离心力和 离心机转子	水平转子	N/A	4000g	100kDa 为 3000g, 其它 MWCO 为4000g
	固定角转子	14000g, 1000g 反转离心	6000g	100kDa 为 3000g, 其它 MWCO 为5000g
浓缩倍数	终体积	10-13 μ L, 反转离心	100-150 μ L	400-500 μ L
	浓缩倍数	40-50 倍	30-40 倍	30-40 倍
蛋白或者 微球离心时间	5kDa	20min	30min	40min
	10kDa	15min	15min	20min
	30kDa	10min	10min	15min
	50kDa	10min	10min	15min
	100kDa	10min	10min	15min

Q: 处理后样品怎样收集?

A: 两种方式：移液枪转移和反转离心

(1) 对于15 mL和4 mL的超滤离心管，可以直接通过移液枪收集处理后样品

(2) 对于0.5 mL的超滤离心管，可以通过反转离心方式收集处理后样品：将有浓缩样品的超滤离心管（内管）倒置于新的离心管中后，低速离心（1,000 g）后将样品重新离心到新离心管中（如下图步骤所示）



Q: 超滤离心管的样品会因为离心时间过长而变干么?

A: 不会，因为有死体积设计，总会有溶液残留在滤管中。

Q: 超滤离心管可以用酒精消毒灭菌么?

A: 装置与70%乙醇是兼容的，但是我们对灭菌处理的具体方法没有做相关的测试，所以无法提供更进一步的参考信息。

Q: 超滤装置是否可以用于高压灭菌?

A: 不可以。

Q: 是否提供无热源的超滤装置?

A: 我们提供的超滤装置均非无热源的，即使是无菌装置也可能包含热源。

Q: 超滤离心管是否不含RNA酶?

A: 我们不保证超滤离心管不包含RNA酶，建议您可以用0.1% DEPC在37度浸泡2小时，以完全灭活RNA酶。残留的DEPC可以用超纯水洗涤除去。

Q: 说明书中推荐在室温下进行离心，考虑到蛋白的稳定性，我是否可以在4℃进行离心?

A: 可以，但是低温会增加蛋白样品的粘性，导致流速减慢，建议可将离心时间延长到原来的1.5倍。

Q: 如何对超滤离心管进行去除内毒素的处理?

A: 我们提供的超滤离心管是没有过去内毒素处理的，同时由于内毒素通常以多聚体的形式存在，大小在10-1000kDa之间不等，在超滤的过程中是无法去除的。

>> Part IV: 结果分析

Q: 用超滤离心管去除去污剂是有什么需要注意的吗?

A: 去污剂因其独特的性质, 当浓度大于临界微团浓度 (Critical Micelle Concentration, CMC) 时, 去污剂分子会聚集形成微团分子而改变分子构象, 这有可能会影响去污剂的去除效果

Q: 我的蛋白在浓缩时出现了沉淀为什么?

A: 蛋白如果浓缩过快或者过度浓缩都有可能引起蛋白沉淀。我们建议蛋白浓缩后的最终浓度 不超过20mg/ml. 对于对浓缩速度敏感而容易沉淀的蛋白, 我们建议的改进方法是:

- 1) 离心力降为推荐离心力的30%-50%。
- 2) 改选择下一级过滤装置 (如原本选用10kDa, 此时可以选择30kDa)
- 3) 在浓缩过程中, 取出超滤离心管, 用枪头反复吹吸几次。

Q: 浓缩后我发现浓缩液中没有目的蛋白, 可能的原因是?

A: 首先, 超滤离心管的最低起始蛋白浓度为25ug/ml. 请确保您的样本的起始浓度 大于这个浓度。其次, 如果问题仍然出现。请不要丢弃您的样本滤过液, 以做下一步分析:

- 1) 如果您的样本在滤过液中, 那么请排查:
 - 您是否选择了合适截留分子量的超滤离心管 (目的蛋白分子量的1/2或者1/3) ?
 - 使用的离心力是否是在最高范围内? 如果您使用的是rpm, 需根据离心半径, 换算成相应离心力
 - 离心机最近是否有校准过?
 - 您是否首次尝试这个蛋白? 如果能确保你用同样的超滤离心管对其他蛋白成功操作的话, 那么有可能是您的目的蛋白的原因。有时蛋白会因其本身的一些特性 (构象差异) 而影响浓缩效果, 建议选用上一分子量级别的超滤离心管 (如原本选用30kDa, 此时可以选择 10kDa) 。
- 2) 如果您的样本也不在滤过液中:
 - 您的样本起始蛋白浓度是否大于25ug/mL?
 - 您用来确定样本浓度的方法是什么? 是否可信?
 - 您的目的蛋白是不是沉淀了? 如果是, 具体解决方法请参考上面的关于蛋白沉淀的 FAQ。

Q: 我用浓缩后的蛋白做下游分析时发现干扰, 可能原因?

A: 超滤离心管中的超滤膜含有微量甘油。如果此材料干扰分析, 可用缓冲液 或超纯水预清洗。如果干扰仍然存在, 用0.1 mol/L NaOH清洗, 然后用缓冲液或超纯水再次清洗后甩干。

Q: 有时候我用超滤离心管连水都离不下来, 可能原因?

A: 超滤离心管中的超滤膜含有微量甘油。如果出现这种情况, 先用0.1 mol/L NaOH清洗再离心。最后用缓冲液或超纯水再次清洗后甩干。清洗后的滤膜应立即使用, 如暂时不用, 请保持润湿状态, 避免重新干燥。

Q: 使用超滤离心管对蛋白进行浓缩的过程中怀疑目的蛋白和膜之间可能存在非特异性吸附, 如何改善这一现象?

A: 超滤离心管使用的是PES膜材质, 拥有低蛋白吸附能力。但是对于一些疏水性蛋白或非极性蛋白, 它们和膜的非特异吸附可能会增强, 对于这种情况, 客户可以尝试在实验前对超滤离心管进行封闭处理, 详细步骤可联系技术支持。同时也可建议客户通过减小膜面积来降低非特异性吸附。



超滤离心管选择指南

超滤离心管需要根据起始样品体积、目标蛋白分子量或者微球粒径、浓缩倍数、离心参数等选择具体型号，下表为选择最合适截留分子量的超滤离心管提供了一些参考建议。



起始体积		≤0.5mL	≤4mL	≤15mL
蛋白分子量 (MW)	10k<MW<20k	5kDa	5kDa	5kDa
	20k<MW<60k	10kDa	10kDa	10kDa
	60k<MW<100k	30kDa	30kDa	30kDa
	100k<MW<200k	50kDa	50kDa	50kDa
	200k<MW	100kDa	100kDa	100kDa
纳米微球直径 (DIA)	3nm<DIA<5nm	5kDa	5kDa	5kDa
	5nm<DIA<7nm	10kDa	10kDa	10kDa
	7nm<DIA<10nm	30kDa	30kDa	30kDa
	10nm<DIA<15nm	50kDa	50kDa	50kDa
	15nm<DIA	100kDa	100kDa	100kDa
离心力和离心机转子	水平转子	N/A	4000g	100kDa 为 3000g, 其它 MWCO 为4000g
	固定角转子	14000g, 1000g 反转离心	6000g	100kDa 为 3000g, 其它 MWCO 为5000g
浓缩倍数	终体积	10-13 μL, 反转离心	100-150μL	400-500μL
	浓缩倍数	40-50 倍	30-40 倍	30-40 倍
蛋白或者微球离心时间	5kDa	20min	30min	40min
	10kDa	15min	15min	20min
	30kDa	10min	10min	15min
	50kDa	10min	10min	15min
	100kDa	10min	10min	15min



我们尽我们所知所能,就应用技术和监管事项向客户提供信息和建议,但不承担任何义务或责任。我们客户在任何情况下都应遵守现行法律法规。这也适用于第三方的任何权利。我们的信息和建议并不能免除我们客户检查我们的产品是否适合预期用途的责任。

