

# Amicon Ultra

## 超超滤管常见问题解答

### Part I: 产品知识

**Q: Amicon Ultra超滤管都有哪些用途?**

A: Amicon Ultra超滤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buffer。

**Q: Amicon Ultra超滤管有哪些规格?**

A: Amicon Ultra超滤管提供四种样本体积的规格：0.5 mL, 2 mL, 4 mL & 15 mL。每种规格都含有5种标称截留分子量：3K, 10K, 30K, 50K, 100K。如果处理更大体积的样本，欢迎咨询技术支持。

**Q: Amicon Ultra超滤管的膜材质是什么?**

A: Amicon Ultra超滤管的膜材质为再生纤维素膜。

**Q: Amicon Ultra超滤管的化学相容性如何?**

A: Amicon Ultra超滤管适用于一般的水溶液或生物样品，特殊样本的化学相容性请参考每个相应User Guide中的“Chemical Compatibility”表格，也欢迎拨打我们的技术服务热线咨询。

**Q: 我可以重复使用超滤管么?**

A: 所有的离心超滤管都是一次性的，不推荐重复使用。

**Q: 超滤管可耐受的pH值范围是多少?**

A: 对于再生纤维素膜，说明书中所推荐的pH范围为3-13。具体酸碱类型及浓度请参考说明书中的化学相容性表。

### Part II: 产品选择

**Q: 我该如何选择合适的Amicon Ultra装置用于蛋白的浓缩?**

A: 一般我们推荐选择的超滤管的标称分子量为目标蛋白的1/2或者1/3。

**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: Amicon Ultra超滤管可以用于核苷酸纯化与浓缩么?**

A: 目前我们只在Amicon Ultra 30kDa MWCO上测试过137bp到1159bp双链DNA的浓缩效果（回收率>90%），具体操作方法及回收效率请参考说明书中DNA Concentration部分。

**Q: Amicon Ultra超滤管可以用于病毒浓缩么?**

A: 可以。对于慢病毒，我们推荐Amicon Ultra 100kDa MWCO；对于腺病毒，推荐Amicon Ultra 50kDa MWCO。具体的操作protocol，可以参考我们的病毒浓缩纯化试剂盒：FTLV00003和FTAV00003。

**Q: Amicon Ultra超滤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Amicon Ultra超滤管用于



纳米颗粒的浓缩及纯化，并获得很好的结果。Amicon Ultra超滤管的标称分子量对应的膜孔径范围请参考下图：

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: Amicon Ultra超滤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，具体操作可参考下述链接：

[http://www.emdmillipore.com/Web-US-Site/en\\_CA/-/USD/ViewParametricSearch-SimpleOfferSearch?SynchronizerToken=2b698302b8d2f4e477a773d444bf3ca76d947101e6b05bc1f9b5acfa14a4b929&SynchronizerToken=2b698302b8d2f4e477a773d444bf3ca76d947101e6b05bc1f9b5acfa14a4b929&search=&TrackingSearchType=SB+-+Search+Box&SearchContextPageletUUID=&SearchTerm=A+centrifugal+ultrafiltration-based+method+for+enrichment+of+microvesicles+&search=](http://www.emdmillipore.com/Web-US-Site/en_CA/-/USD/ViewParametricSearch-SimpleOfferSearch?SynchronizerToken=2b698302b8d2f4e477a773d444bf3ca76d947101e6b05bc1f9b5acfa14a4b929&SynchronizerToken=2b698302b8d2f4e477a773d444bf3ca76d947101e6b05bc1f9b5acfa14a4b929&search=&TrackingSearchType=SB+-+Search+Box&SearchContextPageletUUID=&SearchTerm=A+centrifugal+ultrafiltration-based+method+for+enrichment+of+microvesicles+&search=)

### Part III: 实验操作

**Q: 如果使用Amicon Ultra超滤管，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：

		Amicon® Ultra-0.5	Amicon® Ultra-2	Amicon® Ultra-4	Amicon® Ultra-15
Product	Starting Volume	<0.5 mL	<2 mL	<4 mL	<15 mL
	Final Volume	15-20 µL	15-20 µL	50 µL	200 µL
	Concentration Factor	X25-X33	X100-X133	X80	X75
Rotor and G Force	Rotor Adaptor	Standard 1.5 mL	Standard 15 mL	Standard 15 mL	Standard 50 mL
	Fixed-Angle (35°) Rotor	14,000 g 1,000 g reverse spin	7,500 g 1,000 g reverse spin	5,000 g for 100 kDa 7,500 g for all other MWCO	5,000 g
	Swinging Bucket Rotor	N/A	4,000 g 1,000 g reverse spin	4,000 g	4,000 g

**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的超滤管，可以直接通过移液枪收集处理后样品

(2) 对于0.5 mL和2 mL的超滤管，可以通过反转离心的方式收集处理后样品：将有浓缩样品的超滤管（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（如图1中的Recover步骤所示）

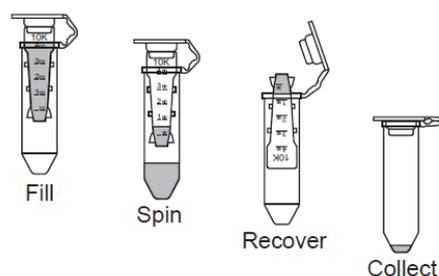


图1. Amico Ultra-0.5操作步骤示意图

**Q: Amicon Ultra超滤管的膜会因为离心时间过长而变干么?**

A: 不会, 因为Amicon Ultra有死体积设计, 总会有溶液残留在滤管中。

**Q: Amicon Ultrar超滤管可以用酒精消毒灭菌么?**

A: Amicon Ultra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: Amicon Ultra超滤装置是否可以用于高压灭菌?**

A: 不可以, Amicon Ultra都是采用热封设计, 不可以用高压高温灭菌。

**Q: Millipore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: Amicon Ultra超滤管是否不含RNA酶?**

A: 我们不保证超滤管不包含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Milli-Q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: 如何对超滤管进行去除内毒素的处理?**

A: 我们提供的超滤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10-1000KD之间不等, 在超滤的过程中是无法去除的。客户可在实验前通过先用0.5M NaOH预清洗, 随后用Milli-Q水/缓冲液buffer清洗的步骤去除大部分内毒素。

## Part IV:结果分析

**Q: 用Amicon Ultra超滤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, 具体的protocol可以参考

[http://www.emdmillipore.com/Web-US-Site/en\\_CA/-/USD/ViewParametricSearch-SimpleOfferSearch?SearchTerm=Detergent+removal+using+Amicon%C2%AE+Ultra+or+Microcon%C2%AE+centrifugal+ultrafilters+&SelectedSearchResult=SFDocumentSearch&SearchContextPageletUUID=](http://www.emdmillipore.com/Web-US-Site/en_CA/-/USD/ViewParametricSearch-SimpleOfferSearch?SearchTerm=Detergent+removal+using+Amicon%C2%AE+Ultra+or+Microcon%C2%AE+centrifugal+ultrafilters+&SelectedSearchResult=SFDocumentSearch&SearchContextPageletUUID=)

**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10K, 此时可以选择30K)
- 3) 在浓缩过程中, 取出超滤管, 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, Amicon Ultra超滤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:
  - a) 您是否选择了合适截留分子量的超滤管 (目的蛋白分子量的1/2或者1/3)?
  - b) 使用的离心力是否是在最高范围内? 如果您使用的是rpm, 请换算成相应的g离心,

具体换算方法请参考：<https://www.msu.edu/~venkata1/gforce.htm>

c) 离心机最近是否有校准过？

d) 您是否首次尝试这个蛋白？如果能确保你用同样的超滤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管（如原本选用30K，此时可以选择10K）。

2) 如果您的样本也不在滤过液中：

a) 您的样本起始蛋白浓度是否大于25ug/ml？

b) 您用来确定样本浓度的方法是什么？是否可信？

c) 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有关扰，可能原因？**

A: Amicon® Ultra-4装置的超过滤薄膜含有微量甘油。如果此材料干扰分析，可用缓冲液或Milli-Q®水预清洗。如果干扰仍然存在，用0.1 N NaOH清洗，然后用缓冲液或Milli-Q®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: Amicon® Ultra-4装置的超过滤薄膜含有微量甘油。如果出现这种情况，先用0.1 N NaOH清洗再离心。最后用缓冲液或Milli-Q®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: 超滤管使用的是再生纤维素膜材质，拥有极低的蛋白吸附能力。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。

同时也可建议客户换成Amicon Ultra 0.5或2来进行实验，通过减小膜面积来降低非特异性吸附。