



用户指南

Amicon® Ultra-4离心过滤器

用于体积不超过4 mL的样本



Amicon® Ultra-4 10K装置，供体外诊断用

Amicon® Ultra-4 3K、30K、50K和100K装置仅用于研究，不用于诊断程序。

中文

引言

Amicon® Ultra-4离心过滤器具有快速超过滤功能，能够达到较高的浓缩系数，易于从稀释液和复杂的样本组合进行浓缩液回收。其竖式设计以及可用的滤膜表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），并能进行80倍浓缩。典型的处理时间为10至40分钟，这取决于标称分子量限值（NMWL）。竖式设计将溶质极化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。浓缩液用移液管从过滤器的样本槽中收集，而超过滤滤出液则收集到所提供的离心管中。该装置可在摆桶（可提供最佳性能）或定角转子中旋转。Amicon® Ultra-4装置未经消毒，只供一次使用。

Amicon® Ultra-4产品系列有5种不同的截留分子量（标称分子量限值，NMWL，或截留分子量，MWCO）：

- Amicon® Ultra 3K装置 – 3,000 NMWL
- Amicon® Ultra 10K装置 – 10,000 NMWL
- Amicon® Ultra 30K装置 – 30,000 NMWL
- Amicon® Ultra 50K装置 – 50,000 NMWL
- Amicon® Ultra 100K装置 – 100,000 NMWL

CE Amicon® Ultra-4 10K过滤器用于体外诊断，可用来在分析之前浓缩血清、尿液、脑脊髓液和其他体液。

Amicon® Ultra-4 3K、30K、50K和100K过滤器仅用于研究，不用于诊断程序。

应用

- 浓缩含有抗原、抗体、酶、核酸（单株或双株DNA/RNA样本）、微生物、洗出液和净化样本的生物样本
- 净化组织培养基提取液和细胞溶解液中的大分子成分，从反应混合液中去掉引物、连接或分子标记，在HPLC之前去除蛋白质
- 除盐、更换缓冲液或渗透

所提供的材料

Amicon® Ultra-4装置包括一个盖子、一个过滤器和一个离心管。



所需设备

- 带有摆桶式（首选）或定角式转子的离心机以及可以容纳17 mm × 124 mm 15 mL锥底试管的样本腔/试管座

注意： 为了避免在离心过程中损坏装置，在旋转前请检查间隙。

- 带有200微升（ μL ）尖端的移液管，用于浓缩液回收

适用性

为确保对预定用途的适用性，建议进行初步的回收和截留试验。请参见“如何量化回收”部分。

装置储存与保质期

储存在15–30 °C下。保质期自生产之日起3年。对于产品目录编号为UFC801008、UFC801024和UFC801096的产品，请参见包装标签上的失效日期。

预清洗

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。

注意： Amicon® Ultra超过滤装置中的滤膜一旦润湿后应避免重新干燥。若在预清洗后没有立即使用该装置，则让液体保留在滤膜上，直到使用该装置为止。

如何使用Amicon® Ultra-4离心过滤器

1. 向Amicon® Ultra超过滤装置加入不超过4 mL的样本（如果使用23°定角转子，则为3.5 mL）。
2. 将盖好盖子的过滤装置放入离心转子（最好为摆桶转子）中，用一个类似的装置抵住。

3. 当使用摆桶转子时，以最大 $4,000 \times g$ 旋转约10–40分钟。
当使用定角转子时，需将装置方向设置成使滤膜板朝上。

对于Amicon® Ultra 3K、10K、30K和50K装置，以最大 $7,500 \times g$ 旋转约10–40分钟。

对于Amicon® Ultra 100K装置，以最大 $5,000 \times g$ 旋转约10–20分钟。

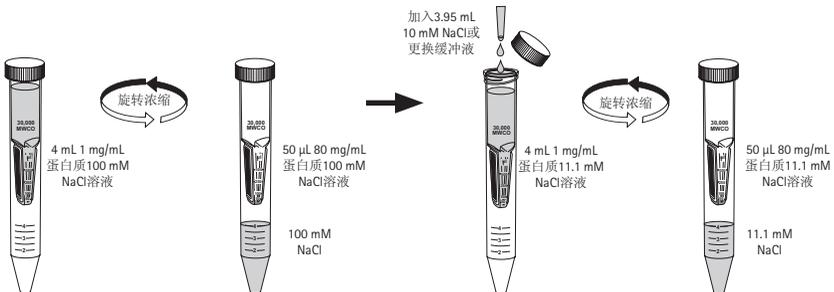
说明： 关于典型旋转时间，请参见图1和图2以及表2和表3。

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。

除盐或渗滤

除盐、更换缓冲液或渗滤是去除含有生物分子的溶液中的盐分或溶剂的重要方法。可以在Amicon® Ultra-4装置中，通过浓缩样本、然后向浓缩液加入任何所需溶剂复原至样本原始体积的方式，去除盐分或更换缓冲液。可重复“洗出”过程，直到污染微溶质的浓度充分降低为止。请参见下文举例。



性能 – DNA浓度

Merck Millipore Ltd.已经确定, Amicon® Ultra-4 30K装置对范围从137至1,159的碱基对双株DNA提供回收率与旋转时间之间的最佳平衡。

表1. Amicon® Ultra-4 30装置的核苷酸典型回收率

双株DNA碱基对大小	旋转时间 (分钟)	浓缩液体积 (μL)	回收率 (%)
137-1,159	10	50-70	> 85

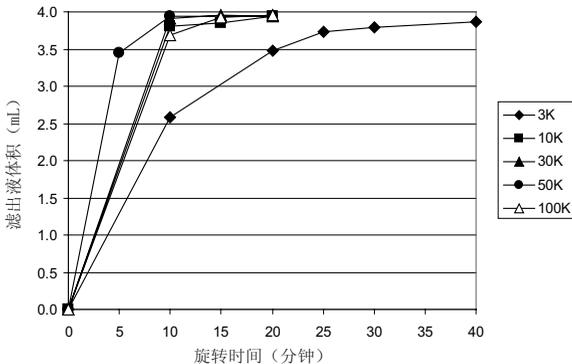
旋转条件: 定角转子, 5,000 x g, 室温, 2 mL起始体积。

性能 – 蛋白浓度

流速

影响流速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、滤膜类型以及温度。图1和图2以及表2和表3可用来估计对各种蛋白质分子量标准达到给定的滤出液体积或浓度所需的时间。4 mL样本旋转时间一般约需10至40分钟(取决于装置的标称分子量限值)。尽管大部分样本在离心过程的前10至20分钟滤过, 但一般在旋转20至40分钟之后才能达到最低浓缩液体积(30-75 μL)。

图1. 典型的滤出液体积与旋转时间 (摆桶式转子)

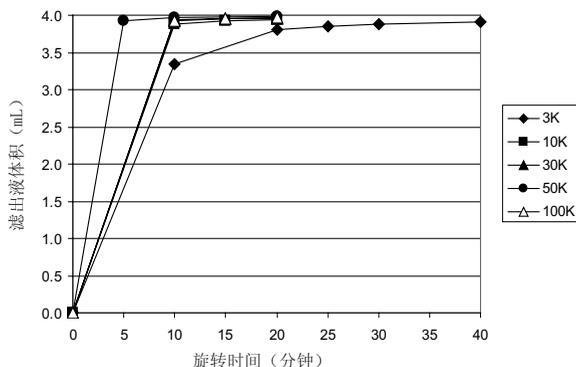


旋转条件: 4,000 x g, 室温, 4 mL起始体积。

所使用的蛋白质分子量标准: 对3K和10K使用细胞色素c, 对30K和50K使用BSA, 对100K使用IgG, n=6。

流速，续

图2. 典型的滤出液体积与旋转时间（定角转子）



旋转条件：对3K、10K、30K和50K为7,500 × g，对100K为5,000 × g，室温，4 mL起始体积。所使用的蛋白质分子量标准：对3K和10K使用细胞色素c，对30K和50K使用BSA，对100K使用IgG，n=6。

表2. 典型的浓缩液体积与旋转时间（摆桶式转子）

旋转时间 (分钟)	浓缩液体积 (μL)				
	3K装置	10K装置	30K装置	50K装置	100K装置
10	1,369	176	73	32	264
15	-	76	46	-	36
20	478	58	37	30	33
25	228	-	-	-	-
30	159	-	-	-	-
40	94	-	-	-	-

旋转条件：4,000 × g，室温，4 mL起始体积。所使用的蛋白质分子量标准：对3K和10K使用细胞色素c，对30K和50K使用BSA，对100K使用IgG，n=6（3批滤膜的平均值）。灰色的体积是用来计算表5中蛋白质回收量的体积。

表3. 典型的浓缩液体积与旋转时间（定角转子）

旋转时间 (分钟)	浓缩液体积 (μL)				
	3K装置	10K装置	30K装置	50K装置	100K装置
10	613	97	42	23	53
15	-	54	30	-	30
20	170	35	22	15	26
25	118	-	-	-	-
30	92	-	-	-	-
40	62	-	-	-	-

旋转条件：对3K、10K、30K和50K为7,500 × g，对100K为5,000 × g，室温，4 mL起始体积。所使用的蛋白质分子量标准：对3K和10K使用细胞色素c，对30K和50K使用BSA，对100K使用IgG，n=6（3批滤膜的平均值）。灰色的体积是用来计算表5中蛋白质回收量的体积。

蛋白质截留率和浓缩液回收率

Amicon® Ultra超过滤装置滤膜的特征由标称分子量限值（NMWL）描述，即它们截留超过一定分子量的分子的能力。分子量接近NMWL的溶质可能只有部分被截留。滤膜的截留率取决于溶质的分子大小和形状。在大多数应用中，分子量是用来评估截留特性的一个方便的参数。Merck Millipore Ltd.建议在浓缩应用中使用NMWL至少比蛋白质分子量小两倍的滤膜。请参见表4。

表4. 蛋白质分子量标准的典型截留率

分子量标准/浓度	分子量	装置 NMWL	截留率% 摆桶	截留率% 定角	旋转时间 (分钟)
α-胰凝乳蛋白酶原(1 mg/mL)	25,000	3K	>95	>95	40
细胞色素 c (0.25 mg/mL)	12,400		>95	>95	40
维生素 B-12 (0.2 mg/mL)	1,350		<35	<35	40
α-胰凝乳蛋白酶原(1 mg/mL)	25,000	10K	>95	>95	15
细胞色素 c (0.25 mg/mL)	12,400		>95	>95	15
维生素 B-12 (0.2 mg/mL)	1,350		<15	<15	15
BSA (1 mg/mL)	67,000	30K	>95	>95	10
卵清蛋白 (1 mg/mL)	45,000		>90	>90	10
细胞色素 c (0.25 mg/mL)	12,400		<20	<20	10
维生素 B-12 (0.2 mg/mL)	1,350		<10	<10	10
BSA (1 mg/mL)	67,000	50K	>95	>95	10 (SB), 5 (FA)
卵清蛋白 (1 mg/mL)	45,000		~60	~65	10 (SB), 5 (FA)
细胞色素 c (0.25 mg/mL)	12,400		<10	<10	10 (SB), 5 (FA)
甲状腺球蛋白 (0.5 mg/mL)	677,000	100K	>95	>95	15
IgG (1 mg/mL)	156,000		>90	>90	15
卵清蛋白 (1 mg/mL)	45,000		<25	<20	15

旋转条件：对于3K、10K、30K和50K，摆桶（SB）转子，4,000 × g，或者定角（FA）转子，7,500 × g，对于100K，5,000 × g，4 mL起始体积，室温，n=6（3批滤膜的平均值）。灰色列取自表2和表3。

蛋白质截留率和浓缩液回收率，续

决定样本回收率的因素包括相对于所选装置的NMWL的蛋白质溶质的性质、起始浓度和浓缩系数。表5提供了Amicon® Ultra-4装置的典型回收率。

表5. 典型的浓缩液回收率

分子量标准/ 浓度	装置 NMWL	旋转时间 (分钟)	浓缩液体积 (μL)		浓缩系数 (\times)		浓缩液回收率 (%)	
			摆桶式	定角式	摆桶式	定角式	摆桶式	定角式
细胞色素 c (0.25 mg/mL)	3K	40	94	62	43.5	65.0	98.2	96.7
细胞色素 c (0.25 mg/mL)	10K	15	76	54	52.3	76.6	97.3	98.5
BSA (1 mg/mL)	30K	10	73	42	56.1	98.6	95.8	95.0
BSA (1 mg/mL)	50K	10	32	23	137.0	177.4	98.8	92.8
IgG (1 mg/mL)	100K	15 (SB), 10 (FA)	36	53	115.9	56.8	92.2	91.3

旋转条件：对于3K、10K、30K和50K，摆桶（SB）转子， $4,000 \times g$ ，或者定角（FA）转子， $7,500 \times g$ ，对于100K， $5,000 \times g$ ，4 mL起始体积，室温， $n=6$ （3批滤膜的平均值）。灰色列取自表2和表3。

最大化样品回收率

浓缩液中的样本回收量低可能由于吸附损失、过度浓缩、或者样本穿过滤膜造成。

- 吸附损失取决于溶质浓度、其疏水性、温度、与过滤装置表面的接触时间、样本成分及pH值。为最大限度地降低损失，离心后请立即取走浓缩后样本。
- 如果样本起始浓度高，请监视离心过程，以免使样本过度浓缩。过度浓缩可导致沉淀和样本损失。
- 如果样本看起来渗过了滤膜，请选用较低NMWL的Amicon® Ultra-4装置。

如何量化回收

使用以下方法计算总回收量、浓缩液回收率%及滤出液回收率%。本程序可算出浓度最高约20 mg/mL的溶液的回收量近似值。

说明：适当的化验技术包括吸收分光光度学法、放射免疫检定法、折光率及传导性。

直接称重复序

大多数稀释蛋白的密度与水的密度大致相同（即1 g/mL）。利用这一特性，可通过称取浓缩液与滤出液重量并将其单位从克转化成毫升的方法，对其进行量化。本方法仅适用于浓度不超过或约为20 mg/mL的溶液。

1. 使用之前，分别称取空的过滤装置、离心管和空的浓缩液收集管的重量。
2. 在过滤装置中加入溶液，然后重新称重。
3. 按说明组装装置和离心机。
4. 用移液管收集浓缩液，然后将其注入到已经预先称重的浓缩液收集管。
5. 从离心管上取下装置，然后称取离心管和浓缩液收集管的重量。
6. 减去空的装置/试管的重量，计算初始材料、滤过液及浓缩液的重量。
7. 化验初始材料、滤出液及浓缩液，以确定溶质浓度。
8. 使用重量/体积数据及所测出的浓度来计算回收量，方法如下：

$$\text{浓缩液回收率}\% = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\text{滤出液回收率}\% = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\text{总回收率}\% = \text{浓缩液回收率}\% + \text{滤出液回收率}\%$$

W_c = 化验前浓缩液总重量

W_o = 初始材料重量

W_f = 滤出液重量

C_c = 浓缩液浓度

C_o = 初始材料原始浓度

C_f = 滤出液浓度

规格

最大初始样本体积

摆桶和定角转子（45°和35°） 4.0 mL

定角转子（23°） 3.5 mL

典型的最终浓缩液体积 50–100 μ L

最大相对离心力

摆桶式转子 4,000 \times g

定角转子 7,500 \times g, 对3K、10K、30K和50K NMWL

5,000 \times g, 对100K NMWL

有效膜面积

3 cm²

尺寸

试管中的过滤器（已盖上盖子）

长度： 124 mm 直径： 17.3 mm

过滤器

长度： 73.4 mm 直径： 17.2 mm

装置材料

过滤器 苯乙烯共聚物/丁二烯

滤膜 Ultracel®低粘性再生纤维素膜

滤出液管 聚丙烯

滤出液盖子和衬里 聚乙烯

化学相容性

Amicon® Ultra 超离心装置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。

表6. Amicon® Ultra 超过滤器的化学相容性

酸	浓度		浓度
氨基磺酸	≤ 3%	三氟乙酸 (TFA)	≤ 30%*
甲酸	≤ 5%*	三氯乙酸 (TCA)	≤ 10%*
磷酸	≤ 30%	硝酸	≤ 10%
硫酸	≤ 3%	盐酸	≤ 1.0 M
乳酸	≤ 50%	乙酸	≤ 50%*

碱			
氢氧化铵	≤ 10%	氢氧化钠	≤ 0.5 M

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

洗涤剂			
Alconox® 洗涤剂	≤ 1%	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)	≤ 0.1%
Nonidet™-P 40 表面活性剂	≤ 2%	脱氧胆酸钠	≤ 5%
Tergazyme® 洗涤剂	≤ 1%		

有机溶剂			
苯	不建议使用	三氯甲烷	不建议使用
吡啶	不建议使用	四氯化碳	不建议使用
丙酮	不建议使用	四氢呋喃	不建议使用
二甲亚砜 (DMSO)	≤ 5%*	乙腈	≤ 20%
甲苯	不建议使用	乙酸乙酯	不建议使用
甲醛	≤ 5%		

其他			
苯酚	≤ 1%	咪唑	≤ 100 mM
丙三醇	≤ 70%	尿素	≤ 8 M
二硫苏糖醇 (DTT)	≤ 0.1 M	巯基乙醇	≤ 0.1 M
焦碳酸二乙酯	≤ 0.2%	三羟甲基氨基甲烷缓冲剂 (pH 8.2)	≤ 1 M
聚乙二醇	≤ 10%	碳酸钠	≤ 20%
磷酸盐缓冲剂 (pH 8.2)	≤ 1 M	盐酸胍	≤ 6 M
硫酸铵	饱和的		

* 与此化学物接触可能会造成部件的材料析出。建议使用空白溶剂确定析出物是否可能干扰化验。

体外诊断产品标签

Amicon® Ultra-4 10K装置标签上的符号所代表的含义请见下表。

符号	定义	符号	定义
	体外诊断医疗设备		生产日期
	产品目录编号		制造商
	请勿重复使用		温度限制
	过期日		未消毒产品
	批号		CE 符合性标识

产品订购信息

本节提供了Amicon® Ultra超过滤装置的产品目录编号。 联系信息请见技术支持部分。 您可登录www.millipore.com/products购买这些产品。

初始体积 (mL)	最终浓缩液体积 (µL)	产品	数量/包	3K	10K	30K	50K	100K
0.5	15-20	Amicon® Ultra-0.5 装置	8	UFC500308	UFC501008	UFC503008	UFC505008	UFC510008
			24	UFC500324	UFC501024	UFC503024	UFC505024	UFC510024
			96	UFC500396	UFC501096	UFC503096	UFC505096	UFC510096
			500	UFC5003BK	UFC5010BK	UFC5030BK	UFC5050BK	UFC5100BK
			96	UFC50VL96				
Amicon® Ultra-0.5集液管								
2	15-70	Amicon® Ultra-2 试生产装置	24	UFC200324PL	UFC201024PL	UFC203024PL	UFC205024PL	UFC210024PL
4	50-100	Amicon® Ultra-4 装置	8	UFC800308	UFC801008*	UFC803008	UFC805008	UFC810008
			24	UFC800324	UFC801024*	UFC803024	UFC805024	UFC810024
			96	UFC800396	UFC801096*	UFC803096	UFC805096	UFC810096
15	150-300	Amicon® Ultra-15 装置	8	UFC900308	UFC901008*	UFC903008	UFC905008	UFC910008
			24	UFC900324	UFC901024*	UFC903024	UFC905024	UFC910024
			96	UFC900396	UFC901096*	UFC903096	UFC905096	UFC910096

* Amicon® Ultra-4和-15 10K装置供体外诊断用。 所有其他装置仅用于研究。

声明

本文件中的信息可能会有所变更，恕不另行通知。不应将本文件中的信息理解为Merck Millipore Ltd.（“密理博”）或其附属公司的承诺。Merck Millipore Ltd.和其任何附属公司对于本文件中可能出现的任何错误概不负责。

技术支持

欲知详情，请联络离您最近的密理博办事处。在我们的网站上有最新的全球联络信息，网址是：www.millipore.com/offices。您亦可浏览我们网站上的技术服务页，网址是www.millipore.com/techservice。

保修

可在www.millipore.com/terms上找到本出版物所列产品的现行保修条款（在适用于您的购买交易的“买卖条款和条件”中）。



爱尔兰制造

Merck Millipore Ltd.
Tullagreen,
Carrigtwohill,
Co. Cork, IRL



M标志是德国达姆施塔特Merck KGaA公司的商标。
Millipore、Amicon、Milli-Q和Ultracel是Merck KGaA公司的注册商标。
Alconox 与Tergazyme 是Alconox, Inc.的注册商标。
Lubrol是Imperial Chemical Industries PLC的注册商标。
Nonidet 是 Royal Dutch/Shell Group的商标。
Triton是Union Carbide Corp. 的注册商标。
Tween 是 ICI Americas Inc.的注册商标。

© 2012 EMD Millipore Corporation. 保留所有权利。

PR03521TR, Rev. A, 中文, 03/12