

琼脂糖凝胶型阴离子交换填料

1 理化指标

凝胶型号	Q-琼脂糖凝胶 FF	Q-琼脂糖凝胶 HP	DEAE-琼脂糖凝胶 FF	DEAE-琼脂糖凝胶 CL-6B
类型	强阴离子	强阴离子	弱阴离子	弱阴离子
配基量	0.18-0.25mmol/ml	0.14-0.20mmol/ml	0.11-0.16mmol/ml	0.13-0.17mmol/ml
颗粒大小	45~165 μ m	~45 μ m	45~165 μ m	45~165 μ m
最大流速*	200 cm/h	100 cm/h	200 cm/h	150 cm/h
工作 pH 值	2~12	2~12	2~9	3-9
稳定性	0.1M 的酸碱以及常规缓冲液			

*检测条件：层析柱 16mm \times 100mm *柱床高 5cm, 25 $^{\circ}$ C, 流动相为 0.1mol/LNaCl。

2 贮存

产品应密封贮存在 4 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C (保存溶液为 20% 乙醇), 通风、干燥、清洁的地方, 不能冷冻。用过的柱子贮存在 4 $^{\circ}$ C (20% 乙醇)。

3 应用

本产品具有高化学稳定性、高流速、高载量、好的机械性能、可在位清洗、多次重复使用等特点, 非特异性吸附低, 回收率高, 适用于工业规模生产, 适用于在 pH 工作范围内可形成负离子的生物大分子的分离纯化, 广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的离子交换制备。

4 使用方法

4.1 装柱

(1) 让所有的材料和试剂均平衡至层析实验的温度。配制缓冲液, 对所有的缓冲液进行脱气处理 (填料不可以超声)。

(2) 检查层析柱所有部件, 特别是过滤网, 密封圈, 螺旋塞是否紧密, 玻璃管是否干净和完整。

(3) 根据需要量取相应量的凝胶, 用去离子水清洗掉 20%乙醇。

(4) 将柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位, 务必使底端无气泡。

(5) 用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内, 注意勿使产生气泡。打开柱子出液口, 使凝胶在柱内自由沉降, 连结好柱子顶端柱头。

4.2 平衡

本产品仅用于科研

让平衡缓冲液以一定流速流过柱子，到流出液电导和 pH 不变。平衡液是低浓度的缓冲溶液，如 Tris、PBS 等。

4.3 上样

- (1) 样品用平衡液配制，浑浊的样品要离心和过滤后上样。盐浓度太大的样品处理后再上样。
- (2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上，用平衡液洗去杂质，再选择一种洗脱液洗下目标产品。
- (3) 介质对样品组分吸附的程度取决于样品的带电性质、流动相的离子强度和 pH 值。推荐的操作 pH 应在缓冲液 pKa 的 0.5 个单位内，并且和目标分子的等电点 (pI) 相差至少一个 pH 单位。

Buffers for anion exchange chromatography

pH interval	Substance	Conc. (mM)	Counter-ion	pK _a (25°C) ¹
4.3-5.3	N-Methylpiperazine	20	Cl ⁻	4.75
4.8-5.8	Piperazine	20	Cl ⁻ or HCOO ⁻	5.33
5.5-6.5	L-Histidine	20	Cl ⁻	6.04
6.0-7.0	Bis-Tris	20	Cl ⁻	6.48
6.2-7.2	Bis-Tris propane	20	Cl ⁻	6.65
8.6-9.6	Bis-Tris propane	20	Cl ⁻	9.10
7.3-8.3	Triethanolamine	20	Cl ⁻ or CH ₃ COO ⁻	7.76
7.6-8.6	Tris	20	Cl ⁻	8.07
8.0-9.0	N-Methyldiethanolamine	20	SO ₄ ²⁻	8.52
8.0-9.0	N-Methyldiethanolamine	50	Cl ⁻ or CH ₃ COO ⁻	8.52
8.4-9.4	Diethanolamine	20 at pH 8.4 50 at pH 8.8	Cl ⁻	8.88
8.4-9.4	Propane 1,3-diamino	20	Cl ⁻	8.88
9.0-10.0	Ethanolamine	20	Cl ⁻	9.50
9.2-10.2	Piperazine	20	Cl ⁻	9.73
10.0-11.0	Propane 1,3-diamino	20	Cl ⁻	10.55
10.6-11.6	Piperidine	20	Cl ⁻	11.12

4.4 洗脱

DEAE 介质可用增大盐浓度或减小 pH 值进行洗脱，常用增大盐浓度的办法洗脱。

4.5 再生

一般用高盐浓度的缓冲液（含 1~2mol/L NaCl）洗或减小 pH 洗 10 倍以上柱体积，接着用结合蛋白的平衡液洗到平衡，可再次使用。

若有失活蛋白质或脂类物质在再生时洗不掉，可用在位清洗（CIP）除去。

4.6 在位清洗

(1) 对于以离子键结合上去的蛋白，可以用 2M NaCl 去除。

(2) 对沉淀蛋白、对以疏水性结合的蛋白或脂类，可用 0.1M NaOH 去除。清洗完毕后，用至少 10 倍缓冲液平衡柱子。

4.7 注意

在装柱、使用和保存柱子的时候，要避免柱子流干，气泡进入。

5 保存

使用完的填料，用纯水彻底冲洗，最后保存在 4℃（保存溶液为 20%乙醇），不能冷冻。

6 注意事项

(1) 上样之前，样品必须经过膜过滤及去除色素，否则杂质及色素会被吸附到填料上，影响填料的正常使用。所有的缓冲液均需要用 0.45um 的过滤器过滤。

(2) 在使用过程中，避免使用高浓度的强酸强碱，酸和碱的浓度应低于 0.1 摩尔。碱会使流速变慢。

(3) 不同的样品，吸附和洗脱方法不相同，可以根据相关的文献进行。

(4) 离子交换介质在选择层析柱时，避免使用细长柱，会增加实验操作压力。