

DEAE-纤维素 DE-52/DE-32

DEAE-纤维素，它采用平均粒径为 50 μ m 的亲水高分子聚合物，表面又用大分子糖链接枝，使它有更高的比表面积和更好的生物兼容性，保持更高载量，同时又具有更好的分辨率。它经过接枝即使是纯化病毒，质粒等超大分子物质，载量基本保持不变。

本产品物理和化学稳定性好，使用寿命长，操作方便。

1 填料特征：

特点	载量大，分辨率好，使用方便。
性状	白色或淡黄色纤维结块状
基质	高度交联纤维素
配基	二乙基氨基乙基
配基密度	约40 μ mol /ml
吸附载量	约110mg HSA/ml
填料的颗粒大小	50 μ m
最大耐压	0.1 MPa
pH范围	3-10，在位清洗时pH范围可到2-11
化学稳定性	各种缓冲液及盐，0.1M NaOH及0.1M的醋酸等

*检测条件：层析柱 10 mm $\times$ 100mm *柱床高 5cm，25 $^{\circ}$ C，流动相为纯水。

2 使用说明：

2.1 色谱柱装填

(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) 称取适量的填料，用纯水室温溶胀 24 小时，或用热水溶胀 4 小时以上（不要水浴，只需将热水倒进填料即可，DE-32 时间相对延长加倍）。溶胀好之后，用纯水清洗 5 倍柱体积。

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

(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，联结好柱子顶端柱头。

2.2 平衡柱子

本产品仅用于科研

用上样的平衡缓冲液平衡柱子后即可上样。（当流出液的 pH 和电导值与起始缓冲液相同时层析柱即完全平衡）。

2.3 上样

样品的盐浓度和 pH 要尽量和平衡柱子的缓冲液一致，盐浓度过高或者 pH 过低也许挂不上。通过透析或脱盐的方法进行缓冲液置换，将样品缓冲液转移至起始平衡缓冲液。

最常见的程序是让目标分子结合到离子交换柱上，其他杂质流出。然而，在一些情况下，离子交换柱结合杂质而使目标分子流出，这样的操作也是可以的。

对于目标分子的吸附，选择具有适当 pH 的缓冲液是至关重要的，请参考下表。

缓冲液的离子强度应保持较低，以免干扰样品结合，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 OO ⁻	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 OO ⁻	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

2.4 蛋白的洗脱

对于 DEAE 纤维素填料，一般使用盐浓度递增或 pH 值递减（线性或者阶梯梯度）的方式来进行洗脱。

2.5 再生

根据样品的性质，通常通过用高离子强度洗脱缓冲液，如 2M NaCl 对柱子进行洗涤，或改变缓冲液 pH，然后在平衡缓冲液中重新平衡来进行再生。如果填料吸附性能发生改变，诸如变性蛋白质或脂质的物质在再生过程中洗脱不下来，则需要通过在位清洗程序 CIP 来清除。

2.6 在位清洗 (CIP)

使用几次后，如果发现结合能力有明显改变，这时候需要进行在位清洗。通过用 2-5 倍柱床体积的 0.1M NaOH 溶液在位清洗填料，随后立即用大量纯水彻底清洗直至中性，从而除去沉淀的蛋白质、疏水结合的蛋白质和脂蛋白。

3 保存

未使用的填料，4-30°C 密闭保存。使用完的填料，用纯水彻底冲洗，保存在 20% 乙醇中，4-8°C 保存。

4 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。所有的缓冲液必须用 0.45um 的滤膜过滤。

(2) 此填料颗粒比较细，所以一定要注意柱子要选择合适的筛网，以免漏出填料。

(3) 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 0.15M，碱会使流速变慢。

(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。

(5) 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。