

DEAE-葡聚糖产品说明书

DEAE-葡聚糖是将二乙胺基乙基键合在快流速葡聚糖凝胶上形成的一种弱阴离子交换介质。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。

1. 外观

本品呈白色，球状、无嗅、无味、无肉眼可见杂质。

2. 理化指标

项 目

指 标

离子交换基团

$-O-CH_2CH_2-N^+(C_2H_5)_2H$

离子交换类型

弱阴离子，可交换离子 Cl^-

基 质

6%交联琼脂糖

蛋白质吸附容量

110mgHSA/ml介质

总离子交换容量

0.11-0.16 mmol/ml 介质

形状

球形

粒径

45~165 μm

流速*

300~600 cm/h; 最大流速750 cm/h

工作温度

4~40°C

耐热

pH7水中120°C 30min

耐压

0.2 MPa

pH稳定性

1~14 (短时间, 在位清洗); 2~12 (长时间)

pH工作范围

2~9

化学稳定性

在以下液体中稳定:

所有常用的水相缓冲液; 1mol/L 氢氧化钠;

8mol/L 尿素; 6mol/L 盐酸胍; 70% 乙醇

*检测条件: 层析柱10mm×300mm *柱床高15cm, 25°C, 流动相为0.1mol/LNaCl

3. 包装

产品以聚胺酯瓶密封包装, 外贴标签, 注明“品名、体积、颗粒大小” 等内容。

4. 运输

运输中应避免日晒、雨淋、重压, 严禁与有毒、有害物品混运。

5. 贮存

产品应密封贮存在4°C~25°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°C（20% 乙醇）。

6. 注意事项

本产品避免与氧化剂接触；避免在pH值 < 4时长时间暴露（一周, 20°C）。

7. 保质期：5年。

8. 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。

下面简要介绍介质的使用过程。

溶胀凝胶方法：

称取葡聚糖于烧杯中，加过量蒸馏水于沸水浴中溶胀2小时或在室温下溶胀6小时以上，形成葡聚糖凝胶。用倾泻法除去上层漂浮的细碎凝胶，重复3~4次。操作中避免剧烈搅拌，防止破坏其交联结构。

8.1 装柱

(1) 让所有的材料和试剂达到室温。配制初始缓冲液（平衡液）和洗脱缓冲液。

(2) 根据柱子大小取所需量的凝胶，抽干，用初始缓冲液（按凝胶：缓冲液=3：1的比例）配成匀浆。匀浆作脱气处理。

(3) 将柱内及柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位（液面略高于滤膜），务必使底端无气泡。

(4) 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。

(5) 打开蠕动泵，让缓冲液用使用时流速的1.33倍的流速流过，使柱床稳定。用2~3倍柱体积的缓冲液平衡柱子。

8.2 平衡

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。

8.3 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配。

(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。盐浓度小，介质对样品组分吸附较牢。用DEAE介质时，推荐的pH值是大于目标产品等电点1个单位。

8.4 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。

8.5 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。

8.6 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1M NaOH 去除。

(3) 对强疏水性结合的蛋白、脂类等，用4~10倍柱体积的70%乙醇或30%异丙醇清洗，但要注意有机溶剂的浓度以梯度的方式逐渐增加，否则容易产生气泡。

清洗完毕后，用至少3倍缓冲液平衡柱子。

8.7 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。

8.8 去热源

用0.5M的氢氧化钠清洗柱子5~6小时或用0.1M的氢氧化钠24小时。或用以下方法步骤去除：

(1) 2倍柱体积的70%乙醇

(2) 2倍柱体积50mM Tris-HCl pH7.5

(3) 1倍柱体积4M尿素

(4) 3倍柱体积的Tris缓冲液+0.1M NaCl

以上缓冲液都在无热源的双蒸水中配制

8.9 消毒

用0.5~1M NaOH室温下洗8~10倍柱体积，初始缓冲液平衡柱子。

9.10 灭菌

置介质于高压灭菌锅中120°C下30分钟。