

DEAE Agarose 6FF (DEAE 弱阴离子交换层析填料 6FF)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
	20540ES25	25 mL
DEAE Agarose 6FF (DEAE 弱阴离子交换层析填料 6FF)	20540ES60	100 mL
	20540ES76	500 mL

产品描述

离子交换树脂主要包括强酸性阳离子交换树脂、弱酸性阳离子交换树脂、强碱性阴离子交换树脂和弱碱性阴离子交换树脂 4 种，广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的分离纯化。

本品 DEAE 弱阴离子交换树脂以高度交联的 6%琼脂糖为介质，可耐受较高的流速及更高的化学稳定性，适合实验室及工业大规模纯化。本品带电基团-N⁺(C₂H₅)₂H。

产品性质

基质 (Matrix)	高度交联的 6%琼脂糖微球
粒径 (Bead size)	45-165 μm
离子交换类型 (Type)	弱阴离子
载量 (Capacity)	~0.11-0.16 mmol Cl ⁻ /mL 基质
流速 (Flow Rate)	300-700 cm/h
pH 范围 (pH Range)	2-12 (长期) / 2-14 (短期)
储存缓冲液 (Buffer)	20%乙醇

运输和保存方法

冰袋运输。2-8°C 保存，有效期 5 年。

使用方法

1 缓冲液的准备

所用水和 Buffer 在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

2 样品准备

样品在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3 装柱 (使用储液器装填)

- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1-2 cm 的去离子水。
- 2) 将树脂悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 3) 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口，开起泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可以避免液压对所形成柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果 (【注】在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%)。当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。
- 5) 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器，去除储液器，将分配器至于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。

8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中, 开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

4 样品纯化

- 1) 将介质装入合适的层析柱, 层析用 5 倍柱体积的结合 Buffer 进行平衡, 使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下, 起到保护蛋白的作用。
- 2) 将样品加到平衡好的 DEAE Agarose Resin 6FF 中 (保证目的蛋白与填料充分接触, 提高目的蛋白的回收率), 收集流出液。
- 3) 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗, 去除非特异性吸附的杂蛋白, 收集洗杂液。
- 4) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer, 收集洗脱液, 即目的蛋白组分。
- 5) 依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料, 最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡, 然后保存在等体积的 20% 的乙醇中, 置于 4 度保存, 防止填料被细菌污染。

5 SDS-PAGE 检测

将得到的样品 (包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分) 以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

6 填料清洗

离子交换树脂每次使用后可以用 1M NaCl 甚至更高离子强度溶液或高 pH 溶液清洗, 然后用至少 5 倍柱体积的 Buffer 进行平衡至离子强度或 pH 值稳定。

CIP (Cleaning In Place) 清洗

离子交换树脂可以重复使用而无需再生, 但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集, 往往造成流速和结合载量都下降, 这时可按照下面方法对树脂进行清洗。

1) 去除一些沉淀或变性物质

用 2 倍柱体积的 1M NaOH 溶液进行清洗, 然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH7.4 清洗。

2) 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70% 乙醇或 3-4 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 清洗, 然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH7.4 清洗。

3) 去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2M NaCl 清洗, 然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

注意事项

- 1) 请勿冷冻保存本产品。
- 2) 填料使用前一定要充分颠倒若干次, 使琼脂糖珠混合均匀。
- 3) 所有操作过程中, 样本需要在 4°C 或冰上操作。
- 4) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 5) 本产品仅作科研用途!

附表 问题及解决方案

问题	可能原因	推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	按照【填料清洗】部分对树脂进行清洗。
		样品中含有微小的固体颗粒, 建议使用前用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。
洗脱样品较杂	树脂重复多次使用	按照【填料清洗】部分对树脂进行清洗或更换新树脂。
	平衡不充分	增加平衡液体积, 确保树脂充分平衡/洗杂。