

DEAE Beads 6FF 的重力柱说明书

货号: AC17654

规格: 1*1mL / 1*5mL / 5*1mL / 3*1mL+1*5mL / 5*5mL

保存: 2-8°C

产品说明:

离子交换树脂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。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四种。DEAE Beads 6FF 是一种弱阴离子交换树脂, 离子交换基团, $-O-CH_2CH_2-N(C_2H_5)_2$ 。

表 1: 介质性能参数

基质	高度交联 6%的琼脂糖微球
离子交换类型	弱阴离子
离子载量	约 0.11-0.16mmol Cl/ml 介质
粒径 (μm)	45-165
pH 稳定范围	2-12
建议流速	300-600cm/h
贮存溶液	20%乙醇

纯化流程:

1、Buffer 的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

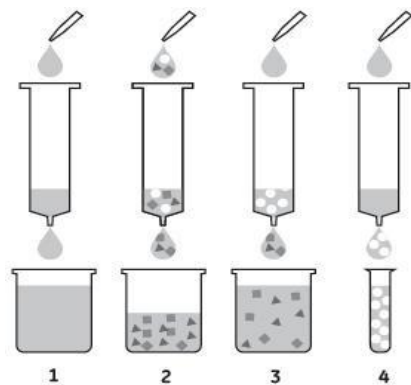
所使用的平衡液和洗脱液, 根据不同离子交换填料自行选择。基本原则是低盐上样, 高盐洗脱

2、样品准备

样品在上样前建议离心或用 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、样品纯化

DEAE Beads 6FF 重力柱使用请参考以下说明, 各溶液用量均按照柱体积计算(柱体积是指填料体积)。使用流程请参考下图。



Step 1: 柱子平衡; Step 2: 上样; Step 3: 洗杂; Step 4: 洗脱

1) 水洗: 将 DEAE Beads 6FF 重力柱固定在铁架台上, 依次去掉上端塞和下端塞, 使液体流出。

当柱内剩余液面略高于上筛板，向管中加入 5-10 个柱体积的去离子水，去除残留的保护液。

2) 平衡：当液面略高于上筛板，向柱管中加入 5 个柱体积的平衡液，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。

3) 上样：将样品加到平衡好的重力柱中，样品保留时间至少 2min，保证目的蛋白与介质充分接触，提高目的蛋白的回收率。收集流出液，用于 SDS-PAGE 分析蛋白质的结合情况，在出现问题时，更方便寻找解决问题的方案。

4) 洗杂：用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。

5) 洗脱：使用 5-10 倍柱体积的洗脱液进行目的蛋白的洗脱，分段收集，每一个柱体积收集一管，分别检测，既可以保证所有结合的目的蛋白被洗脱，又可以得到高纯度和高浓度的蛋白。

6) 水洗：使用 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 倍柱体积的平衡液进行平衡，至离子强度或 pH 值稳定。再用至少 5 倍柱体积的去离子水平衡填料。将重力柱保存在等体积的 20%乙醇中，置于 2-8°C 保存，防止填料被细菌污染。

4、SDS-PAGE 检测

将纯化过程中收集的样品（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。

填料清洗

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，pH 7.4 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% TritonX-100 清洗，然后立即 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 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。

常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	进行填料清洗。
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜（0.22μm 或 0.45μm）过滤，或者离心去除。
洗脱样品较杂	树脂重复多次使用	进行填料清洗或更换新填料
	洗杂不充分	增加洗杂液体积，确保树脂充分平衡/洗杂
	样品带电性能相似	优化洗脱条件