

## Cellulose DE-32 纤维素 DE-32 使用说明书

货号:AC11039

保存:在 20%乙醇中, 4℃下长期保存。

### 产品简介

DEAE-纤维素,它采用平均粒径为 50 $\mu$ m 的颗粒型亲水高分子聚合物,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,它在高流水下保持更高载量,同时又具有更好的分辨率。由于比表面积大,平衡和洗脱的时间也更短。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。

### 填料特征:

特点	载量大,分辨率好,流速高,使用方便。
基质	高度交联纤维素
配基	二乙基氨基乙基
配基密度	40 $\mu$ mol /ml
吸附载量	180mg HSA/ml
填料的颗粒大小	50 $\mu$ m
最大流速	100cm/h
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 及醋酸, 8M 脲, 6M 盐酸胍, 乙醇, 异丙醇等
物理稳定性	0.5M 中性缓冲液中, 120℃30min
保存温度	+4~30℃
保存	干粉,1g=8-9ml 左右

### 处理方法:

1. 先将干粉的纤维素浸泡在20%乙醇中,一段时间大约2小时左右,去除杂质,最好抽干一下;
2. 再用0.1mol/l的醋酸溶液浸泡2小时,用去离子水洗净至PH中性,并抽干;
3. 将抽干的纤维素再浸泡在0.1mol/l的NaOH溶液中2小时,用去离子水洗至中性,抽干。即可用了。

### 操作步骤:

#### 1) 色谱柱装填

1、所需要用到的材料的温度要与色谱操作的温度一样,液体最好做脱气处理。填料可直接称量需要的量用缓冲液溶涨一小时,除去上层漂浮物,装柱即可。

2、在柱子下端加入 20%乙醇，以除去柱子中的空气，关闭柱子出口，在柱内保留少量的 20%乙醇。20%乙醇容易产生气泡，可以在里面加 1%吐温避免气泡产生。也可以换成纯水装柱子，但是需要把填料中的 20%乙醇也换成纯水，具体的方法取需要体积的填料在抽滤漏斗上进行，也可以小心倾去填料上的 20%乙醇，再换成 5 倍体积的纯水，反复沉淀去上清，5 次左右就可以用于装柱子。

3、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，不能漏，也可以取点填料加到筛网上试试，如果没有问题再将填料连续倒入柱子时，要用玻璃棒的紧靠柱子内壁引流，以减少气泡的产生，让填料先自然沉降到填料体积不再变化，而填料和上面的液体很好分层，上层溶液完全澄清，就可以开泵用适当的流速压柱子，填料体积不再变化后，再把转换头紧顶在填料上就可以平衡柱子使用。使用的流速要小于装柱子的流速。

4、在装柱子前，填料从冰箱中取出至少要室温放置 2-3 个小时，这样避免装柱子时由于温度变化而使柱子中产生气泡。

## 2) 蛋白的结合

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 带低也许挂不上，所以要根据自己的样品做适当调整。

## 3) 蛋白的洗脱

这个填料如果采用线性梯度洗脱，柱子的直径和高度比最好是大于 10，数值越大越有利于分离，而且样品最好别上太多，可以按约 10mg/ml 上样，如果采用阶段洗脱的方法，装短粗柱子就可以，上样量也没有限制。阶段洗脱容易放大，重复性好，如果洗脱条件好完全可以得到和线性梯度一样或者更好。采用什么方法完全根据自己需要。

## 再生清洗:

1、每次用完最好用 0.1MNaOH 含 2M NaCl 洗 5 个床体积，再用水洗 5 个柱床体积，然后用 20%乙醇保存，使用 3-5 次后在水洗之后再用水洗 70%的乙醇或 30%异丙醇都含 1%吐温洗 5 个柱床体积，最后 20%的乙醇流洗 5 个柱床体积。

2、有机溶剂和水混合很容易产生气泡，为了避免这样情况，可以把配好的有机溶剂在室温放置过夜，再使用，这样可以避免气泡进柱子而导致柱子不能正常使用。

## 特别注意:

上样之前，样品至少用 0.45 微米膜过滤，尽量去除色素，否则色素会被吸附到填料上，影响填料的正常使用。

在使用过程中，不能使用强酸强碱，酸和碱的浓度应低于 0.15 摩尔。