

## 阳离子交换填料使用说明

规格：25g/100g/500g

保存：RT, 1年

### 产品说明：

凝胶型号	SP 葡聚糖凝胶 C-25	SP 葡聚糖凝胶 C-50	CM 葡聚糖凝胶 C-25	CM 葡聚糖凝胶 C-50
货号	AC15826	AC15827	AC15754	AC15753
基团	-SO <sub>3</sub> -H <sup>+</sup>	-SO <sub>3</sub> -H <sup>+</sup>	-COO-H <sup>+</sup>	-COO-H <sup>+</sup>
载量	2.0-2.6mmol/g	2.0-2.6mmol/g	4-5 mmol/g	4-5 mmol/g
颗粒大小	干粉 40-120 μm	干粉 40-120 μm	干粉 40-120 μm	干粉 40-120 μm
最大流速*	150cm/h	45cm/h	150cm/h	45cm/h
工作 pH 值	6-10	6-10	4-13	4-13
pH 稳定性	2-12	2-13	2-12	2-13

\*HR10/10 层析柱, 5 cm 柱床高度

### 使用方法：(仅供参考)

将干粉浸泡于纯水或缓冲液中, 室温下完全溶胀需 1-2 天, 100 度热水大概需要半个小时。完全溶胀后除去上清液, 用缓冲液彻底清洗填料。

#### 1. 装柱

1) 将所有实验材料均需平衡至进行色谱层析操作的温度;

2) 缓冲液脱气处理;

3) 在柱子下端加入纯水装柱子, 以排除气泡, 将填料连续倒入柱子时, 要用玻璃棒紧靠柱子内壁引流, 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, 用上样的平衡液平衡柱后即可上样。

#### 2. 上样

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, 结合杂质而使目标分子不结合而穿透柱子, 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;

pH interval	Substance	Conc.(mM)	Counter-ion	pK <sub>a</sub> (25°C)
1.4-2.4	Maleic acid	20	Na <sup>+</sup>	1.92
2.6-3.6	Methyl malonic acid	20	Na <sup>+</sup> or Li <sup>+</sup>	3.07
2.6-3.6	Citric acid	20	Na <sup>+</sup>	3.13
3.3-4.3	Lactic acid	50	Na <sup>+</sup>	3.86
3.3-4.3	Formic acid	50	Na <sup>+</sup> or Li <sup>+</sup>	3.75
3.7-4.7	Succinic acid	50	Na <sup>+</sup>	4.21
5.1-6.1	Succinic acid	50	Na <sup>+</sup>	5.64

4.3-5.3	Acetic acid	50	Na <sup>+</sup> or Li <sup>+</sup>	4.75
5.2-6.2	Methyl malonic acid	50	Na <sup>+</sup> or Li <sup>+</sup>	5.76
5.6-6.6	MES	50	Na <sup>+</sup> or Li <sup>+</sup>	6.27
6.7-7.7	Phosphate	50	Na <sup>+</sup>	7.20
7.0-8.0	HEPES	50	Na <sup>+</sup> or Li <sup>+</sup>	7.56
7.8-8.8	BICINE	50	Na <sup>+</sup>	8.33

Handbook of chemistry and physics, 83<sup>rd</sup> edition, CRC, 2002-2003.

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 在缓冲液的 pK<sub>a</sub> 的 0.5pH 单位内，并且高于目标分子的等电点 (pI) 至少一个 pH 单位。

### 3.洗脱

对于 CM 葡聚糖凝胶和 SP 葡聚糖凝胶填料，使用递增的盐梯度（线性或者阶梯洗脱）或递增的 pH 梯度（线性或者阶梯洗脱）实现洗脱。

### 4.再生

根据样品的性质，通常通过用高离子强度缓冲液（例如 1-2M NaCl）洗涤，或降低缓冲液 pH，然后在平衡缓冲液中重新平衡来进行再生。在一些应用中，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。

### 5.在位清洗 (CIP)

通过用 5 倍柱床体积的 2M NaCl 溶液来除去结合的蛋白质。

通过用 2 倍柱床体积的 0.1M NaOH 溶液清洗填料，随后用大量纯水或者缓冲液彻底清洗直至不含碱，从而除去沉淀的蛋白质，疏水结合的蛋白质和脂蛋白。

用高达 70% 的乙醇或 30% 异丙醇溶液清洗填料，可以除去强疏水结合的蛋白质，脂蛋白和脂质。

请避免使用磷酸，醋酸缓冲液，可以采用 Tris-HCl 作为使用 Buffer。

### 6.保存

使用完的填料，用纯水彻底冲洗，最后保存在 4℃（保存溶液为 20%乙醇），不能冷冻。

未用过的产品室温密闭保存。

### 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。
- 2.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 0.15 摩尔。碱会使流速变慢。
- 3.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。
- 4.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。