

DEAE Agarose 6FF

产品信息:

组成	PA306-01	PA306-02
DEAE Agarose 6FF	5ml	100ml

储存条件: 2-8℃, 避免冷冻

产品简介:

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)₃。

支持物: CL-6B 琼脂糖凝胶

载量: ~0.11-0.16 mmol Cl⁻/mL 基质 粒径: 50-160 μm

操作步骤:

- 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 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。

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。