

DEAE-琼脂糖凝胶 FF

DEAE-琼脂糖凝胶 FF 是将二乙胺基乙基键合在快流速琼脂糖凝胶上形成的一种弱阴离子交换介质，具有优异的流动性能，广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的离子交换制备。

1 理化指标

项 目	指 标
离子交换基团	-O-CH ₂ CH ₂ -N ⁺ (C ₂ H ₅) ₂ H
离子交换类型	弱阴离子，可交换离子 Cl ⁻
基质	6%交联琼脂糖
蛋白质吸附容量	95mgHSA/ml 介质
总离子交换容量	0.09~0.13 mmol/ml 介质
粒径	45~165 μm
最大流速*	300cm/h
工作温度	4~40℃
耐压	0.3 MPa
pH 稳定性	1~14 (短时间); 3~12 (长时间)
pH 工作范围	2~9
化学稳定性	所有常用的水相缓冲液; 0.1mol/L 氢氧化钠;

*检测条件：层析柱 16mm×100mm *柱床高 5cm，25℃，流动相为 0.1mol/LNaCl。

2 贮存

产品应密封贮存在 4℃~25℃（保存溶液为 20% 乙醇），通风、干燥、清洁的地方。不能冷冻。
用过的柱子贮存在 4℃（20% 乙醇）。

3 应用

本产品具有高化学稳定性、高流速、高载量、好的机械性能、可在位清洗、多次重复使用等特点，非特异性吸附低，回收率高，适用于工业规模生产，适用于在 pH 工作范围内可形成负离子的生物大分子的分离纯化，广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的离子交换制备。

4 使用方法

4.1 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) 实验所需要用到的缓冲液以及洗脱液进行脱气处理;

3) DEAE-琼脂糖凝胶 FF 的储存液为 20%乙醇, 需要用去离子水彻底清洗掉保存液。

4) 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。

4.2 平衡

让平衡缓冲液以一定流速流过柱子, 到流出液电导和 pH 不变。平衡液是低浓度的缓冲溶液, 如 Tris 、 PBS 等。

4.3 上样

(1) 样品用平衡液配制, 浑浊的样品要离心和过滤后上样。盐浓度太大的样品处理后再配。

(2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上, 用平衡液洗去杂质, 再选择一种洗脱液洗下目标产品。

(3) 介质对样品组分吸附的程度取决于样品的带电性质、流动相的离子强度和 pH 值。盐浓度小, 介质对样品组分吸附较牢。用 DEAE 介质时, 推荐的 pH 值是至少大于目标产品等电点 1 个单位。

4.4 洗脱

DEAE 介质可用增大盐浓度或减小 pH 值进行洗脱, 常用增大盐浓度的办法洗脱。

4.5 再生

一般用高盐浓度的缓冲液 (含 1~2mol/L NaCl) 洗或减小 pH 洗 10 倍以上柱体积, 接着用结合蛋白的平衡液洗到平衡, 可再次使用。

若有失活蛋白质或脂类物质在再生时洗不掉, 可用在位清洗 (CIP) 除去。

4.6 在位清洗

(1) 对于以离子键结合上去的蛋白, 可以用 2M NaCl 去除。

(2) 对沉淀蛋白、对以疏水性结合的蛋白或脂类, 可用 0.1M NaOH 去除。

清洗完毕后, 用至少 10 倍缓冲液平衡柱子。

4.7 注意

在装柱、使用和保存柱子的时候, 要避免柱子流干, 气泡进入。

5 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。

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。