DEAE-纤维素

1 简介

DEAE-纤维素，它采用平均粒径为 50μm 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，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，质粒等超大分子的物质，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。

用之前可以用纯净水溶胀，如有杂质去除，多洗几遍至中性。

2 填料特征：

特点	载量大，分辨率好，使用方便。
性状	白色或淡黄色纤维结块状
基质	高度交联纤维素
配基	二乙基氨基乙基
配基密度	40μmol /ml
吸附载量	110mg HSA/ml
填料的颗粒大小	50μm
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，醋酸等
物理稳定性	0.1M中性缓冲液中，120℃30min
保存温度	4℃

3 应用的注意事项：

3.1 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装柱即可，如果不好溶胀，可适当加热。

（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。

3.2 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。

3.3 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。

4 再生清洗

（1）用完之后用0.1M 醋酸洗5个柱体积，然后用2M NaCl洗5个床体积，再用水洗至中性，然后用20%乙醇保存。

（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。

5 保存

在 20%乙醇中，4℃下长期保存。

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。