上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

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。

这款填料是预湿型的，溶胀后体积不会增加太多，大概约为 1.5 倍（即 100g 的填料溶胀后约 150ml 的体积）

2 填料特点

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（人血清白蛋白）/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℃
耐受压力	0.1MPa

3 应用注意事项

3.1 色谱柱装填

（1）A.0.1M 醋酸（含 0.5M 氯化钠）溶液：以 1L 为例，在 1L 容量瓶加入 6.005g 醋酸和 29.22g 氯化钠，加水溶解后定容。

B.填料使用前需溶胀，用 0.1M 醋酸（含 0.5M 氯化钠）溶液 3-5 倍填料体积，溶胀 1 小时，倒掉溶胀后上面液体及细小碎纤维，再次溶胀 1 小时，倒掉溶胀后上面液体及细小碎纤维,重复 3 次后，换纯水体系或者自己的缓冲液（不同浓度的盐溶液，具体根据文献选择）把醋酸与氯化钠洗掉。不需要使

用氢氧化钠进行处理。

（2）首次处理后可以直接进行装柱，如果是从冰箱中取出的，回复常温后再进行装柱，避免温差导致产生气泡。

（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或砂芯，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。

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需要大于 10，数值越大越有利于分离，上样量可以按约 10mg/ml 上样（即 1ml 柱体积可以上样 10mg，样品浓度没有严格要求，但是样品不能粘稠。），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。但是吸附量大可能造成压力高，和堵塞色谱柱的情况，建议上样量从低到高进行尝试，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）每次用完最好用完之后用 0.1M 醋酸（含 0.5M 氯化钠）溶液冲洗 5-10 个柱体积，再用纯水冲洗至接近中性，然后用 20%乙醇保存。上样十次左右后，如果色素较多，建议使用 0.1M NaOH 洗脱 2-3 个柱体积，也可以卸下来柱子，使用 0.1M NaOH 浸泡 15min 左右，倒掉浸泡液体，再使用新的 0.1M NaOH 浸泡 20min 左右，倒掉，重复三次。用纯水把填料清洗到中性后再使用 20%乙醇保存。（注意：氢氧化钠溶液不可以长时间浸泡，会损伤填料。）

（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

好的有机溶剂超声脱气后，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

如果每天都使用，再生清洗结束后可以保存在柱子中，如果不是每天使用，应密封后保存在 20%乙醇中，4℃下长期保存。

保存在柱子中有可能第二天会产生气泡，一般是由于温差变化导致的，此时建议重新装柱。

6 注意事项

1)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。

2)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。高于此浓度会对填料产生不可逆的损伤。

3）所有过程使用到的液体要进行脱气处理，填料不能超声。

4）保存液和和填料本身会有少量气味，属于正常现象，不影响使用。

5）使用次数与样品杂质程度有关，部分杂质吸附在填料上就洗脱不下来，一旦超过填料承受范围会变成絮状物，如果絮状物较少，可以在烧杯中加纯水，轻轻搅拌上层絮状物去除。其余填料不影响分离情况下可以继续使用。