



此说明仅限参考

葡聚糖凝胶型阴离子交换填料

1 理化指标

凝胶型号	QAE 葡聚糖凝胶 A-25	QAE 葡聚糖凝胶 A-50	DEAE 葡聚糖凝胶 A-25	DEAE 葡聚糖凝胶 A-50
基质	交联葡聚糖	交联葡聚糖	交联葡聚糖	交联葡聚糖
类型	强阴离子	强阴离子	弱阴离子	弱阴离子
配基量	2-3.4 mmol/g干粉	2-3.4 mmol/g干粉	2.5-4 mmol/g干粉	2.5-4 mmol/g干粉
颗粒大小	干粉 40-120 μ m			
最大流速*	100cm/h	45cm/h	100cm/h	45cm/h
工作 pH 值	2-12	2-12	2-9	2-9
稳定性	0.1M 的酸碱以及常规缓冲液			

* 层析柱 10mm*20cm, 5 cm 柱床高度, 流动相为水, 25 $^{\circ}$ C

2 使用方法

2.1 填料的准备

将干粉浸泡于纯水或缓冲液中, 液体可以适当多加一些, 室温下完全溶胀需 2 天 (室温低的情况下可能时间要延长), 或者用热水浸泡大约 4 个小时 (直接倒进去即可, 切记不要水浴)。完全溶胀后除去上清液以及上层少许漂浮物, 用缓冲液彻底清洗填料。

2.2 装柱

- (1) 所有实验材料均需平衡至色谱层析操作的温度, 所有的缓冲液进行脱气处理 (填料不可以超声);
- (2) 检查层析柱所有部件, 特别是过滤网, 密封圈, 螺旋塞是否紧密, 玻璃管是否干净和完整。
- (3) 用去离子水清洗掉 20%乙醇保存液, 用缓冲液配成匀浆。
- (4) 将柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位, 务必使底端无气泡。
- (5) 用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内, 注意勿使产生气泡。打开柱子出液口, 使凝胶在柱内自由沉降, 连结好柱子顶端柱头。

2.3 平衡柱子

用上样的平衡缓冲液平衡柱子后即可上样。(当流出液的 pH 和电导值与起始缓冲液相同时层析柱即完全平衡)。

2.4 上样

样品应溶解在起始平衡缓冲液中, 或者通过透析或脱盐的方法进行缓冲液置换, 将样品缓冲液转移至起始平衡缓冲液。样品的粘度不应超过平衡缓冲液, 上样前必须使用 0.45 μ m 微孔滤膜对样品进行过滤。



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，离子交换柱结合杂质而使目标分子流出，这样的操作也是可以的。

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。

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 应在缓冲液 pKa 的 0.5 个单位内，并且和目标分子的等电点 (pI) 相差至少一个 pH 单位。

Buffers for anion exchange chromatography

pH interval	Substance	Conc.(mM)	Counter-ion	pK _a (25°C) ¹
4.3-5.3	N-Methylpiperazine	20	Cl ⁻	4.75
4.8-5.8	Piperazine	20	Cl ⁻ or HCOO ⁻	5.33
5.5-6.5	L-Histidine	20	Cl ⁻	6.04
6.0-7.0	Bis-Tris	20	Cl ⁻	6.48
6.2-7.2	Bis-Tris propane	20	Cl ⁻	6.65
8.6-9.6	Bis-Tris propane	20	Cl ⁻	9.10
7.3-8.3	Triethanolamine	20	Cl ⁻ or CH ₃ OO ⁻	7.76
7.6-8.6	Tris	20	Cl ⁻	8.07
8.0-9.0	N-Methyldiethanolamine	20	SO ₄ ²⁻	8.52
8.0-9.0	N-Methyldiethanolamine	50	Cl ⁻ or CH ₃ OO ⁻	8.52
8.4-9.4	Diethanolamine	20 at pH 8.4 50 at pH 8.8	Cl ⁻	8.88
8.4-9.4	Propane 1,3-diamino	20	Cl ⁻	8.88
9.0-10.0	Ethanolamine	20	Cl ⁻	9.50
9.2-10.2	Piperazine	20	Cl ⁻	9.73
10.0-11.0	Propane 1,3-diamino	20	Cl ⁻	10.55
10.6-11.6	Piperidine	20	Cl ⁻	11.12

2.5 洗脱

对于 DEAE 葡聚糖凝胶和 QAE 葡聚糖凝胶填料，一般使用盐浓度递增或 pH 值递减（线性或者阶梯梯度）的方式来进行洗脱。

2.6 再生

根据样品的性质，通常通过用高离子强度洗脱缓冲液，如 2M NaCl 对柱子进行洗涤，或改变缓冲液 pH，然后在平衡缓冲液中重新平衡来进行再生。如果填料吸附性能发生改变，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。

2.7 在位清洗 (CIP)

通过用 2-3 倍柱床体积的 0.1M NaOH 溶液在位清洗填料，随后立即用大量纯水彻底清洗直至中性，从而除去沉淀的蛋白质、疏水结合的蛋白质和脂蛋白。



3 保存

未使用的填料，请室温密闭保存。使用完的填料，用纯水彻底冲洗，用然后保存在 20%乙醇中，4-8 °C保存，不能冷冻。

4 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。所有的缓冲液均需要用 0.45um 的过滤器过滤。
- (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 0.1 摩尔。碱会使流速变慢。
- (3) 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。
- (4) 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。