

## 离子交换凝胶 DEAE 6HP 使用说明书

为确保产品的性能和无忧的操作，使用前请仔细阅读本手册，有任何疑问请咨询本公司售后技术支持或当地的销售人员。

### 1. 产品介绍

离子交换凝胶 DEAE 6HP 适用于分离纯化蛋白、多肽、核酸等所有带电的生物分子。

特点：

- 小颗粒，高分辨率。
- 兼容性好，适合各种规模生物分子的中度纯化或精细纯化。
- 纯化工艺灵活性高，可以和疏水层析组合使用。

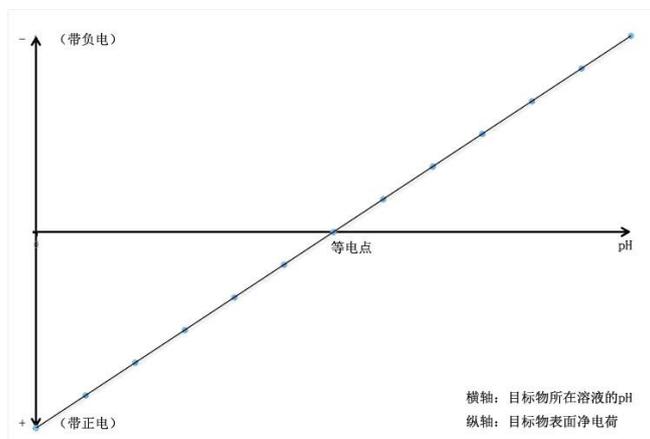
表1：性能参数

介质	DEAE 6HP
基质	高度交联 6%的琼脂糖
粒径范围	25-45 $\mu\text{m}$
平均粒径	37 $\mu\text{m}$
介质类型	弱阴离子交换
带电基团	$-\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{H}$
离子载量	90-130 $\mu\text{mol Cl}^-/\text{ml}$ 介质
pH 稳定性	2-13（长期） 1-14（短期）
操作压力	$\leq 0.3\text{MPa}$
最大流速	150 $\text{cm/h}$
化学稳定性	所有常用缓冲液、1.0M 氢氧化钠、8.0M 尿素、6.0M 盐酸胍、70% 乙醇 避免使用氧化剂、阴离子去污剂、阴离子缓冲液
贮存溶液	20% 乙醇
贮存温度	4-30 $^\circ\text{C}$

### 2. 离子交换介质的选择



图1：离子交换介质的选择



说明：

- 当目标物所在溶液的pH<目标物的等电点时，选择阳离子交换介质。
- 当目标物所在溶液的pH>目标物的等电点时，选择阴离子交换介质。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH、盐的种类、盐的浓度必须能维持目标物的活性，避免目标物过酸/过碱水解、沉淀等情况。

### 3. 缓冲溶液的选择

表2：阴离子交换缓冲液

pH 范围	缓冲盐	浓度 (mM)	平衡离子	pKa(25°C)
4.3-5.3	N-Methylpiperazine	20	Cl <sup>-</sup>	4.75
4.8-5.8	Piperazine	20	Cl <sup>-</sup> 或 HCOO <sup>-</sup>	5.33
6.0-7.0	Bis-Tris	20	Cl <sup>-</sup>	6.48
6.2-7.2	Bis-Tris propane	20	Cl <sup>-</sup>	6.65
7.3-8.3	Triethanolamine	20	Cl <sup>-</sup> 或 CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	7.76
7.6-8.6	Tris	20	Cl <sup>-</sup>	8.07
8.0-9.0	N-Methyldiethanolamine	20	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	8.52
8.4-9.4	Propane 1,3-Diamino	20	Cl <sup>-</sup>	8.88
8.6-9.6	Bis-Tris propane	20	Cl <sup>-</sup>	9.10
9.0-10.0	Ethanolamine	20	Cl <sup>-</sup>	9.50
9.2-10.2	Piperazine	20	Cl <sup>-</sup>	9.73
10.0-11.0	Propane 1,3-Diamino	20	Cl <sup>-</sup>	10.55
10.6-11.6	Piperidine	20	Cl <sup>-</sup>	11.12



表3：阳离子交换缓冲液

pH 范围	缓冲盐	浓度 (mM)	平衡离子	pKa(25°C)
2.6-3.6	Citric acid	20	Na <sup>+</sup>	3.13
3.3-4.3	Lactic acid	50	Na <sup>+</sup>	3.86
4.3-5.3	Acetic acid	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	4.75
5.2-6.2	Methyl malonic acid	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	5.76
5.6-6.6	MES	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	6.27
6.7-7.7	Phosphate	50	Na <sup>+</sup>	7.20
7.0-8.0	HEPES	50	Na <sup>+</sup> 或 Li <sup>+</sup>	7.56
7.8-8.8	BICINE	50	Na <sup>+</sup>	8.33

说明：

- 必须严格按照表2和表3的要求选择缓冲溶液的种类和浓度。
- 错误的缓冲液（种类和浓度）会干扰分离效果，具体体现在影响分离度、离子交换介质的载量、分离纯化过程中的pH波动等。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。
- 所有缓冲液试剂必须使用分析纯或者更高纯度的试剂。
- 在溶液配制后，须经过滤（粒径≤45 μm用0.22 μm过滤、粒径≤165 μm用0.45 μm过滤、粒径≤300 μm用0.8 μm过滤，避免堵塞离子交换介质）和脱气处理（影响分离效果）。

#### 4. 样品的制备

- 样品所在溶液盐的组分及pH必须和平衡液保持一致，可以通过用平衡液稀释或透析、超滤、G25进行缓冲液置换处理。
- 样品过滤（粒径≤45 μm用0.22 μm过滤、粒径≤165 μm用0.45 μm过滤、粒径≤300 μm用0.8 μm过滤，避免堵塞离子交换介质）。

备注：不建议直接用强酸或强碱调整样品溶液的pH，可能会出现目标物的降解和失活。

#### 5. 纯化方式的选择

- 用纯化水以100cm/h的流速清洗5-10CV。
- 用平衡液以100cm/h的流速平衡5-10CV，直至UV、pH、电导平稳。
- 将制备好的样品加载到层析柱中。
- 用平衡液清洗5-10CV，直至没有物质流穿为止。
- 线性梯度洗脱（优选）：线性梯度洗脱10-20CV(0%-50%洗脱液)。  
 等度洗脱：在平衡液的基础上逐步提高盐浓度进行洗脱，每种盐浓度洗脱液洗脱5CV。
- 用100%洗脱液洗脱5CV。

备注：洗脱液=平衡液+1M NaCl，其它组分不变。



### 6. 清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性蛋白、脂类等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量、流动性、柱效等）。

建议每使用 5-10 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

- a. 用 5CV 2M NaCl 以 50cm/h 的流速冲洗（保证接触时间为 1-2h）。
- b. 用 5CV 1M NaOH 以 50cm/h 的流速冲洗（保证接触时间为 1-2h）。
- c. 用 5CV 2M NaCl 以 50cm/h 的流速冲洗（保证接触时间为 1-2h）。
- d. 用 5CV 纯化水以 50cm/h 的流速冲洗，直至 UV、电导平稳。
- e. 用 5CV 保存液以 50cm/h 的流速冲洗后保存。

备注：保存液为 20% 乙醇或 0.1M NaOH。

### 7. 常见问题

表4：常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	1. 上样量过载	降低上样量
	2. 上样速度过快	降低上样流速
	3. 蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质或更换新的介质
	4. 目标物不带电或与介质带同样的电荷	筛选合适的结合缓冲液
	5. 样本或平衡液中盐浓度和pH不正确	检查样品和平衡液中的电导和pH
	6. 选用了错误的缓冲液	参考缓冲液选择表
	7. 样品中加入了不合适的去污剂	检查样品中是否有不合适的去污剂
洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物	1. 目标物没有与介质结合或结合量较少	先确认目标物是否与介质结合
	2. 洗脱条件不合适	洗脱液洗脱能力不够，加大盐浓度和调整洗脱液pH
	3. 洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	4. 洗脱体积过小	加大洗脱体积
	5. 目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀	检测目标物在洗脱液条件（盐浓度和pH）下的溶解度和稳定性。
目标物纯度较低	1. 样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	2. 样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低粘度。



	3.洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4.杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5.洗脱条件不佳	优化洗脱条件
	6.目标物出现降解	检测目标物的稳定性
	7.柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	8.分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	9.介质中有微生物生长	介质使用完后，请及时正确保存介质
介质载量下降	1.上样速度过快	降低上样流速
	2.蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降。	及时清洗介质
	3.使用次数过多，配基被氧化或脱落	及时清洗介质或更换新介质
色谱峰上升缓慢	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2.蛋白沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性和介质的结合效率
	3.分离柱中微生物生长	所用试剂必须经过过滤和脱气；样品上柱前必须离心或过滤

### 8. 订购信息

表5：订购信息表

产品	规格(ml)	货号
DEAE 6HP	25	HY1003-3
DEAE 6HP	100	HY1003-3
DEAE 6HP	500	HY1003-3
DEAE 6HP	1000	HY1003-3

