



Smac DEAE

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 填料清洗.....	2
4. 问题及解决方案.....	2
5. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

Smac DEAE 是适合大量样品快速、经济和高效的捕获和中度纯化的弱阴离子交换填料。该纯化介质在高流量时具有较高的动态结合能力，可以提高纯化效率。另外，快速的传质也提高了纯化的产量。**Smac DEAE** 可以缩短大批量的生产的处理时间，更小的操作单元使得处理成本更经济划算。填料稳定性好，能够满足高效严格的 CIP 清洗。

表 1. Smac DEAE 产品性能

项目	性能
基质	高交联琼脂糖微球
离子交换类型	弱阴离子
离子载量	0.29-0.35 mmol Cl ⁻ /ml 介质
平均粒径	90 μm
线性流速	> 500 cm/h
pH 稳定范围	2-12
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1XPBS
储存温度	4°C - 30°C
化学稳定性	所有常用的水溶液缓冲、1 M 乙酸、1 M 氢氧化钠、6 M 盐酸胍、8 M 尿素，30%异丙醇、70%乙醇

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。
所使用的平衡液和洗脱液，根据样品自行选择。基本原则是低盐上样，高盐洗脱。

2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

2.3 介质装填

Smac DEAE 被广泛应用于工业纯化，因此，涉及到各种中低压色谱层析柱的填装，下面介绍填装层析柱的方法。

层析柱的装填（使用储液器装填）

装柱前根据层析柱直径计算柱子底面积，根据所需装柱高度计算所需介质体积，公式如下：

$$V = 1.15\pi r^2 h$$

V: 所需介质体积 ml

1.15: 压缩系数

r: 柱管半径 cm

h: 装填高度 cm

注意：所取悬液体积应为介质体积的两倍，因为介质体积只占悬液总体积的一半，另一半为保护液。

- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1-2 cm 的去离子水。
- 2) 将填料悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 3) 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口，开启泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。（注意：在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%）当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上





- 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。
- 5) 关闭泵, 关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器, 去除储液器, 将分配器置于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器, 锁紧分配器接头。
- 8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中, 开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

2.4 样品纯化

填料装填好后, 可以用各种常规的中低压色谱系统。

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子, 将层析柱连接至色谱系统中, 打开下出口, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。
- 2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液。
- 3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。
- 4) 利用泵或样品环上样。注: 样品的粘度增加使得即使上样体积很少, 也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压, 使得进样器更难使用。
- 5) 用洗杂液冲洗柱子, 直到紫外吸收达到一个稳定的基线 (一般至少 10-15 个柱体积)。
- 6) 用洗脱液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中, 通常 5-10 倍柱体积洗脱液就足够了。梯度洗脱可以选用 20 倍柱体积或更多, 来分离不同结合强度的蛋白质。

2.5 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品 (包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分) 以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 填料清洗

离子交换填料每次使用后可以 1 M NaCl 甚至更高离子强度溶液或高 pH 溶液清洗, 然后用至少 5 倍柱体积的平衡液进行平衡, 至离子强度或 pH 值稳定。

CIP (Cleaning In Place) 清洗

离子交换填料可以重复使用而无需再生, 但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集, 往往造成流速和结合载量都下降, 这时可按照下面方法对填料进行清洗。

去除一些沉淀或变性物质, 建议使用下面的方法

用 1 M NaOH 溶液在 40 cm/h 流速下进行反向清洗, 接触时间 1-4 h, 效果不佳时可以在 1 M NaOH 中添加 1 M NaCl。然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 30% 异丙醇进行反向清洗, 接触时间 1-2 h。或者可以用 3-4 倍柱体积的 0.1%非离子型去污剂 (如 Triton™ X-100) 反向清洗, 接触时间 1-2 h。然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2 M NaCl 反向清洗, 接触时间 10-15 min, 然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

4. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	按照第 3 部分进行填料清洗。
		裂解液中含有微小的固体颗粒, 建议上柱前使用滤膜 (0.22 或 0.45 μm) 过滤, 或者离心去除。
洗脱样品较杂	填料重复多次使用	按照第 3 部分进行填料清洗或更换新填料
	洗杂不充分	增加洗杂液体积, 确保填料充分平衡/洗杂
	样品带电性能相似	优化洗脱条件

5. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
Smac DEAE	SI021025	25ml
	SI021100	100ml
	SI021500	500ml
	SI02101L	1L
	SI02110L	10L

