

# Crysto DEAE

## Crysto DEAE 40

弱阴离子交换层析介质

### 使用指南

## 1 产品简介

离子交换层析 (IEX) 是目前在生物分子分离纯化中应用最为广泛的方法之一, 依赖于正负电荷间的相互作用, 利用不同生物分子在特定条件下带有电荷的性质和多少的差异来进行分离。

Crysto DEAE 及 Crysto DEAE 40 离子交换介质, 以季铵基为功能基团, 偶联在超高刚性琼脂糖微球上, 与 DEAE Chromrose FF 相比其耐压性更强、载量更高。Crysto DEAE 为中等粒径设计, 应用于目标分子的初步捕获和中度纯化; Crysto DEAE 40 为小颗粒设计, 分辨率更高, 适用于目标分子的中度纯化和精细纯化。

应用领域: 重组蛋白、抗体、核酸、病毒及类病毒颗粒、多糖等生物分子的分离纯化。

## 2 技术参数

产品名称	Crysto DEAE	Crysto DEAE 40
基质	超高刚性微球	超高刚性微球
平均粒径	90 $\mu$ m	40 $\mu$ m
带电基团	$-\text{CH}_2\text{N}^+\text{H}(\text{CH}_3)_2$	$-\text{CH}_2\text{N}^+\text{H}(\text{CH}_3)_2$
每毫升载量	>90mg 卵清蛋白	>90mg 卵清蛋白
最高流速	1200cm/h	400 cm/h
最大耐压	0.5 MPa	0.5 MPa
pH 稳定性	2~12 (工作) 2~14 (短期)	2~12 (工作) 2~14 (短期)
化学稳定性	常用水相缓冲液、1.0M 氢氧化钠、8M 尿素、6M 盐酸胍、70%乙醇、30%异丙醇。	常用水相缓冲液、1.0M 氢氧化钠、8M 尿素、6M 盐酸胍、70%乙醇、30%异丙醇。
避免使用	氧化剂、阴离子型去污剂	氧化剂、阴离子型去污剂
存储	2~30 $^{\circ}$ C 20%乙醇	2~30 $^{\circ}$ C 20%乙醇

## 3 使用指南

### 3.1 填料装柱

Cryo DEAE 系列离子交换层析介质可以在实验室被填充到 HiQumn<sup>®</sup> 中压层析柱中，以扩大产量。将填料填充到层析柱中，根据样品中蛋白含量和填料载量选择合适的层析柱和柱高。

#### 3.1.1 填料准备

在装柱前，填料要平衡到室温，建议采用静置沉淀法，确定胶悬液浓度，我们原包装的填料以 50% 的浓度储存在 20% 的乙醇中。压缩比在 1.10~1.12。

通过真空抽滤，将填料中 20% 乙醇溶液更换为装柱所需的溶液（例如水），重复以上步骤 3 次，最后用装柱缓冲液重新悬浮填料，建议胶悬液浓度为 50%~60%。

所需悬液体积 (mL) = 装柱体积 (mL) × 填料压缩因子 / 胶悬液浓度

#### 3.1.2 层析柱准备

HiQumn<sup>®</sup> 中压层析柱和装柱器在使用前，应用装柱液润洗，检查层析柱完好无损伤，确保所选筛网（筛板）的孔径和所选填料的粒径相匹配，确保底端部件和顶部适配器的管件连接牢固。

#### 3.1.3 层析柱装柱

- 1) 取清洗干净的 HiQumn<sup>®</sup> 中压层析柱，借助蛋白纯化仪或注射器，用装柱液通过下端接头排空管线及筛板中的空气，也可用重力法排空筛板及管线中的空气，在柱子底部保留 1cm 高左右的液体，拧紧下堵头，调整柱子使其垂直于地面。
- 2) 再次混匀胶悬液，确保悬液均一，借助玻璃棒将胶悬液缓慢且一次性贴壁倒入柱管中，用装柱液冲洗柱管并加满。注意不要带入气泡。

注：当装柱体积大于柱体积的 50% 以上时建议借助配套装柱器装柱。

- 3) 使其自然沉降，胶面上有 1~2cm 澄清液时，将适配器管线连接设备，低流速运行，排出适配器管线中的气泡，打开底部管线堵头，将适配器以 45° 角放入玻璃管中，顺时针拧紧上端固定帽，调节适配器使其 O 型圈浸入澄清液中，之后顺时针拧紧上端调节帽。请确保整个操作在一条直线上完成，注意不要引入气泡。
- 4) 可以采用高流速或者恒压法压至胶面清晰稳定。读取刻度并记录，关闭流速。
- 5) 如用装柱器装柱，拆除装柱器，用快速锁将调节杆缓慢下移至胶面位置，将上端调节帽顺时针拧紧，继续运行上述流速，如果胶面发生改变，可以重新调节适配器高度。
- 6) 稍微拧松上端调节帽，按压缩比确定最终柱床高度，拧紧上端调节帽，采用先下后上的方式拧紧上下端堵头，装柱完毕。

### 3.2 柱效测定

- 1) 通过柱效测定和评价可以确认层析柱装填质量。装柱完成后、层析柱使用期间以及分离纯化效果不理想时都需要进行柱效测定和评价。柱效通常用理论塔板高度 (HETP) 和非对称因子 (As) 来评价。
- 2) 柱效测定可以采用丙酮或者 NaCl 作为样品进行测定，按照下表配制样品溶液和流动相。

	丙酮法测柱效	NaCl 法测柱效
样品	1.0%(v/v)丙酮水溶液	0.8M NaCl (溶于水)
样品体积	1.0%柱体积	1.0%柱体积
流动相	纯化水	0.4M NaCl 水溶液
流速	30 cm/h	30 cm/h
检测器	UV 280 nm	电导率

### 3) HETP 和 As 计算方法

根据 UV 或者电导率曲线计算理论塔板高度 (HETP)、理论塔板数 (N) 和非对称因子 (As)，公式如下：

$$HETP=L/N$$

$$N=5.54(V_R/W_h)^2$$

其中：

$V_R$ =保留体积  $W_h$ =半高峰宽

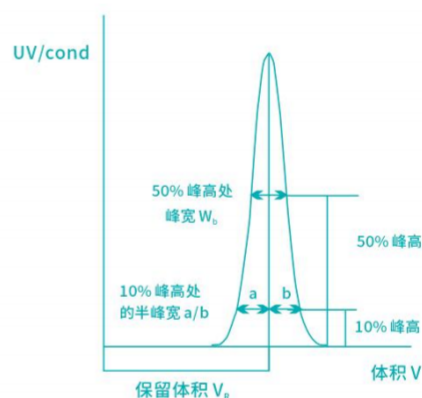
$L$ =柱高  $N$ =理论塔板数  $V_R$  和  $W_h$  的单位应一致；

$As=b/a$

其中：

$a$ = 在 10%峰高处的第一个半峰宽

$b$ = 在 10%峰高处的第二个半峰宽



### 4) 结果评价

一般来说，HETP 的数值若小于三倍介质平均颗粒大小且非对称因子在 0.8~1.8 之间，说明柱效良好。对于不理想的柱效结果需要分析原因并重新装柱。

### 3.3 层析方法

Crysto DEAE 离子交换层析介质可以在实验室被填充到 HiQumn<sup>®</sup>中压层析柱中，以扩大产量。将填料填充到层析柱中，根据样品中病毒含量和填料载量选择合适的层析柱和柱高。

#### 3.3.1 缓冲液准备

具体的缓冲体系应根据目标蛋白的稳定性和等电点、离子交换介质的种类进行筛选和优化。

Crysto DEAE 建议使用缓冲液：

平衡缓冲液：50 mM Tris-HCl, pH8.0

洗脱缓冲液：50 mM Tris-HCl+1M NaCl, pH8.0

#### 3.3.2 样品准备

为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或微滤 (0.45 $\mu$ m) 处理。

#### 3.3.3 样品纯化

- 1) 平衡：用 0.5~1 CV 洗脱缓冲液进行预平衡，再用 5~10CV 的平衡缓冲液平衡层析柱，至流出液电导和 pH 不变（与平衡液一致）；
- 2) 进样：样品缓冲液应尽可能与平衡液一致。
- 3) 淋洗：继续用平衡缓冲液淋洗至基线；
- 4) 洗脱：可以根据实际情况采取提高盐浓度或改变流动相 pH 的方法依次洗脱吸附于层析介质上的样品。
- 5) 再生：每次层析之后可用 0.5M~2M NaCl 清洗层析柱，除去强结合的蛋白；
- 6) 如需二次上样，可用平衡缓冲液清洗 3~5CV，待 pH 和电导率与平衡缓冲液基本一致即可使用。

## 4 在位清洗和储存

### 4.1 在位清洗

介质使用数次（具体次数与原料的种类和来源及实验要求有关）后，需要对介质进行在位清洗；

- 1) 对于通过离子键强结合的蛋白，可用 3CV 2M NaCl 清洗，并用 3 CV 以上的去离子水清洗；
- 2) 对沉淀蛋白、疏水性结合的蛋白，可用 0.2M~0.5 M NaOH 清洗（与层析介质接触时间 1~2 小时），并用 5 CV 以上平衡液和 3 CV 以上的去离子水清洗；
- 3) 对强疏水性结合的蛋白、脂蛋白和脂类物质，可用 5 CV 以上的 50%乙醇或 30%异丙醇清洗，并用 5 CV-10 CV 以上的去离子水清洗。

### 4.2 储存

2~30°C 下 20%乙醇中保存（4°C 下有利于长期保存）；层析柱中的介质可用 20%的乙醇冲洗后保存于 2~30°C。

注：防止乙醇挥发以及微生物生长，建议 3 个月更换一次 20%乙醇溶液；在装柱、使用和保存柱子的时候，要避免柱子流干或密封不严，防止气泡进入。

## 5 订货信息

### 预装柱

货号	产品名称	规格
31-2120-01	Xtrap Crysto DEAE	1mL
31-2120-05		5mL
31-2120-10		8x100mm
31-2130-01	Xtrap Crysto DEAE 40	1mL
31-2130-05		5mL
31-2130-10		8x100mm

### 层析介质

货号	产品名称	规格
15-2120-02	Crysto DEAE	30mL
15-2120-03		100mL
15-2120-04		500mL
15-2120-05		1L
15-2120-07		10L
15-2130-02	Crysto DEAE 40	30mL
15-2130-03		100mL
15-2130-04		500mL
15-2130-05		1L
15-2130-07		10L

1. Crysto DEAE 层析介质可提供试用装
2. 如需更大规格或型号定制可联系我公司销售人员



非常感谢您订购科诺赛生物的产品！  
如需了解最新产品信息，请拨打服务热线 0532-55679191  
或发邮件至 [marketing@chromsep.cn](mailto:marketing@chromsep.cn)  
或者登陆官方网站 [www.chromsep.cn](http://www.chromsep.cn)