



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

羧甲基纤维素 CM-32

产品简介:

羧甲基-纤维素 CM-52/CM-32, 它采用平均粒径为 50 μ m 的亲水高分子聚合物, 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, 具有更高载量, 同时又具有更好的分辨率。它经过接枝即使是纯化病毒, 质粒等超大分子物质, 载量基本保持不变。

本产品物理和化学稳定性好, 使用寿命长, 操作方便。

特点	载量大, 分辨率好, 流速高, 使用方便。
基质	高度交联纤维素
配基	一氯乙酸
配基密度	40 μ mol /ml
吸附载量	70mg 核酸酶
填料的颗粒大小	50 μ m
最大流速	100cm/h
最大耐压	0.1 MPa
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, 0.1M NaOH 及醋酸等

*检测条件: 层析柱 16mm \times 100mm *柱床高 5cm, 25 $^{\circ}$ C, 流动相为纯水。

使用说明:

1. 色谱柱装填

(1) 让所有的材料和试剂均平衡至层析实验的温度。配制缓冲液, 对所有的缓冲液进行脱气处理(填料不可以超声)。

(2) 称取适量的填料, 用纯水溶胀 4 小时, 或用热水溶胀 1 小时(不要水浴)。溶胀好之后, 用纯水清洗 5 倍柱体积。

(3) 检查层析柱所有部件, 特别是过滤网是否完好, 密封圈、螺旋塞是否紧密, 玻璃管是否干净和完整。

(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。
打开柱子出口, 使凝胶在柱内自由沉降, 连结好柱子顶端柱头。

2.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)。

3.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 0.45um 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。

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 值应在缓冲液 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。

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;

Buffers for cation exchange chromatography				
pH interval	Substance	Conc.(mM)	Counter-ion	pKa(25°C) ¹
1.4-2.4	Maleic acid	20	Na ⁺	1.92
2.6-3.6	Methyl malonic acid	20	Na ⁺ or Li ⁺	3.07
2.6-3.6	Citric acid	20	Na ⁺	3.13
3.3-4.3	Lactic acid	50	Na ⁺	3.86
3.3-4.3	Formic acid	50	Na ⁺ or Li ⁺	3.75
3.7-4.7	Succin ic acid	50	Na ⁺	4.21
5.1-6.1	Succin ic acid	50	Na ⁺	5.64
4.3-5.3	Acetic acid	50	Na ⁺ or Li ⁺	4.75
5.2-6.2	Methyl malonic acid	50	Na ⁺ or Li ⁺	5.76
5.6-6.6	MES	50	Na ⁺ or Li ⁺	6.27
6.7-7.7	Phosphate	50	Na ⁺	7.20
7.0-8.0	HEPES	50	Na ⁺ or Li ⁺	7.56



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

7.8-8.8	BICINE	50	Na ⁺	8.33
---------	--------	----	-----------------	------

1 Handbook of chemistry and physics, 83rd edition, CRC, 2002-2003.

4. 洗脱

对于 CM 纤维素填料, 一般使用盐浓度递增或 pH 值递增 (线性或者阶梯梯度) 的方式来进行洗脱。

5. 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。

6. 在位清洗 (CIP)

使用几次后, 如果发现结合能力有明显改变, 这时候需要进行在位清洗。通过用 2-5 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。

保存:

未使用的填料, 4-25℃ 密闭保存。使用完的填料, 用纯水彻底冲洗, 保存在 20% 乙醇中, 4℃ 保存。

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。所有的缓冲液必须用 0.45μm 的滤膜过滤。

(2) 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, 以免漏出填料。

(3) 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 0.15M, 碱会使流速变慢。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

(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。

(5) 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。

