

第五十五期 电子期刊
纤维素基材的DEAE离子
交换凝胶填料的纯化应用

2013年8月

HIGH QUALITY EXPERT



纤维素基材的 DEAE 离子交换凝胶填料的纯化应用

离子交换色谱法广泛用于蛋白质、多糖等的分离纯化，其中 DEAE 是比较常用的类型之一。纤维素基材与葡聚糖、琼脂糖相比，具有机械强度高、溶出物少等优点；与人工合成聚合物类填充剂相比又具体非特异性吸附少等的优点，因此在纯化分离中越来越被广泛应用。本文章以 Waterman DEAE-52 和 JNC 的 A-200 和 A-500 为例给大家介绍具体的应用实例：

DEAE-52 纤维素填料，以纤维素为母体接有二乙基氨基乙基（DEAE）活性基团的弱碱性阴离子交换剂。它采用平均粒径为 50 μ m 的颗粒型亲水高分子聚合物，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，它在高流水下保持更高载量，同时又具有更好的分辨率。由于比表面积大，平衡和洗脱的时间也更短。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。

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	二乙基氨基乙基
配基密度	40 μ mol /ml
吸附载量	180mg HSA/ml
填料的颗粒大小	50 μ m
最大流速	300cm/h
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，0.5M NaOH 及醋酸，8M 脲，6M 盐酸胍，乙醇，异丙醇等
物理稳定性	0.1M 中性缓冲液中，120 $^{\circ}$ C30min
保存温度	+4~30 $^{\circ}$ C
保存	干粉,1g=3-4ml

应用实例：

1. 胀果甘草多糖的分离纯化

胀果甘草通过水提醇沉，再以 Sevag 法和反复醇洗除去蛋白质和色素，得到粗多糖。经 DEAE-52 离子交换柱色谱及 Sepharose CL-6B 和 Sephadex G-50 凝胶柱色谱反复分离纯化，首次从该植物中得到 13 个均一多糖组分，并研究分析了胀果甘草粗多糖和各均一多糖的性质和化学结构。

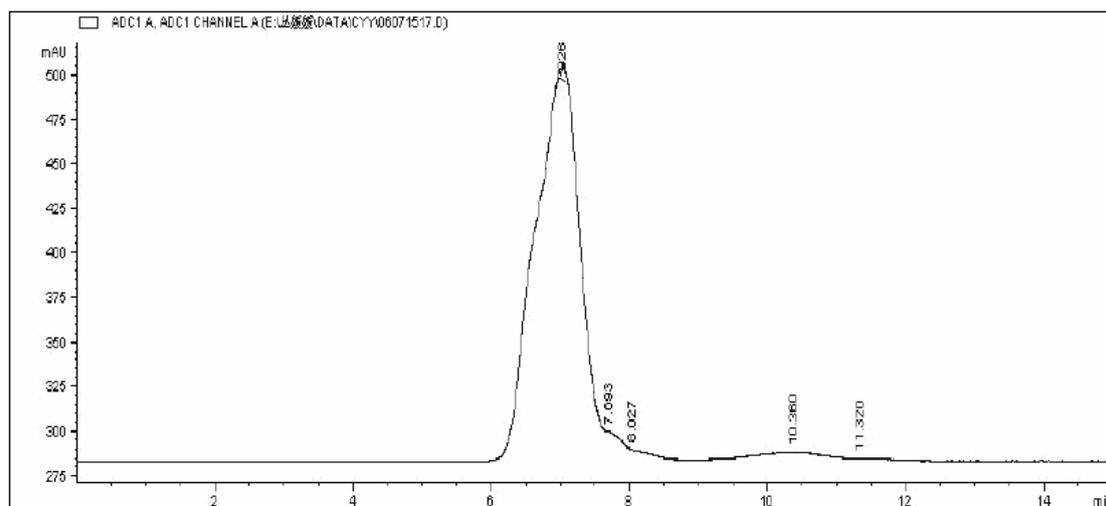


图 1 胀果甘草粗多糖 GiP 的高效凝胶渗透色谱图

2. 大黄多糖的分离纯化

采用传统提取工艺得到大黄粗多糖，然后经 DEAE-52 纤维素柱层析、Sephacryl S-200 凝胶柱层析对粗多糖进行分离纯化，最终得到 3 种均一多糖即 RP-1、RP-2、RP-3。

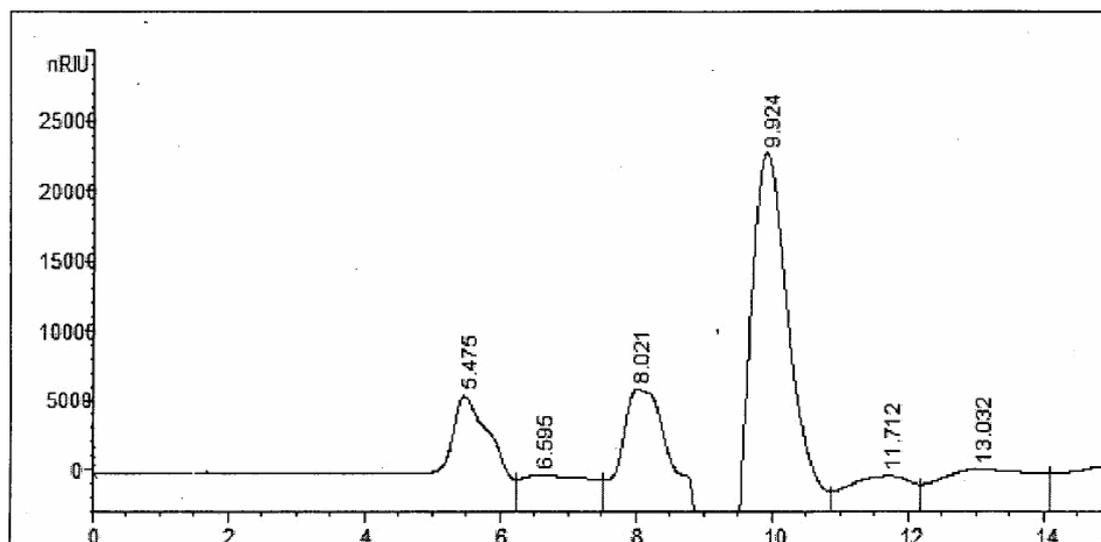
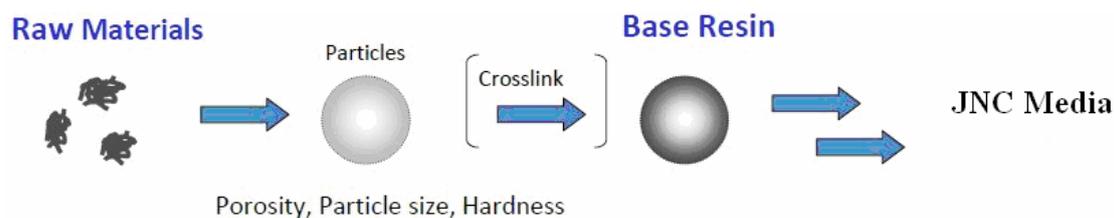


图 2 大黄粗多糖的凝胶色谱图

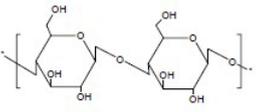
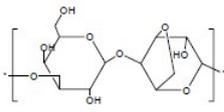
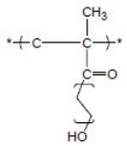
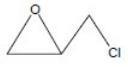
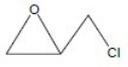
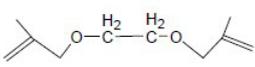
3. DEAE-52 层析对猪血清 IgG 提纯得率的影响

用硫酸铵盐析和 DEAE-52 阴离子交换层析两步法提纯猪血清 IgG，以 SDS-PAGE、Bradford 法浓度测定和免疫双扩散来分析 DEAE-52 层析对 IgG 得率的影响。结果说明：DEAE-52 层析获得两个分来明显无重叠洗脱峰，两峰均含有 IgG，其中第一峰蛋白纯度达 95.7%，得率为 3.0~4.0mg/ml 血清；第二峰 IgG 纯度 59%。

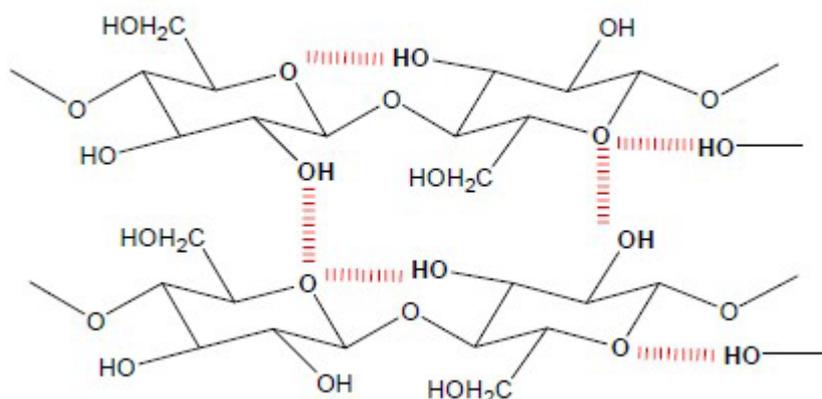
目前，以 Whatman 公司的 DEAE-52 弱阴离子交换树脂为代表的老一代的纤维素填料已经停产，相对较传统的 DEAE-52 层析介质，Cellufine 凝胶是一种以交联的球状纤维素作为基质材料的填充剂。Cellufine 填料是将纤维素溶解成纤维，然后使用特殊方法，使得纤维聚成球，所以粒径均匀、耐压性好；而 Whatman 的 DEAE-52，只是将纤维素打碎，所以从微观上看，大小不均一，承受压力的能力也较差。Cellufine A-200 和 A-500 的吸附率比 DEAE-52 高 10 倍以上！



基质	交联纤维素（球形，多孔）
配基	二乙基氨基乙基
填料的颗粒大小	40-130 μ m
pH 范围	1-13
交换容量(meq/g)	A-200(0.8-1.1)；A-500(1.1-1.4)
化学稳定性	几乎在所有的盐类、表面活性剂、下列溶剂、酸、碱中都可以使用： 8M-尿素、6M-胍/盐酸、0.1N-盐酸、0.1N-氢氧化钠
物理稳定性	可高温高压蒸煮（120 $^{\circ}$ C，60min）
操作压力	< 2bar
保存	20%乙醇水溶液

Company	JNC	Manufacturer A	Manufacturer B
Raw Materials	Cellulose (polysaccharide)	Agarose (polysaccharide)	Synthetic polymer
Origin	Plant	Plant	Chemicals
Structure			
Cross-linking agents (example)			

作为色谱基材，纤维素填料因其直链大分子间通过氢键共价作用形成立体空间结构，使其分子间结构更稳定

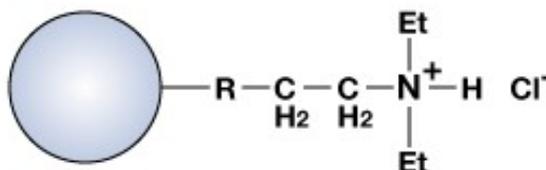


- ◀ 纤维素基材的填料刚性好，稳定性强。
- ◀ 生物兼容性好。
- ◀ 非特异性吸附率低。

结构式：

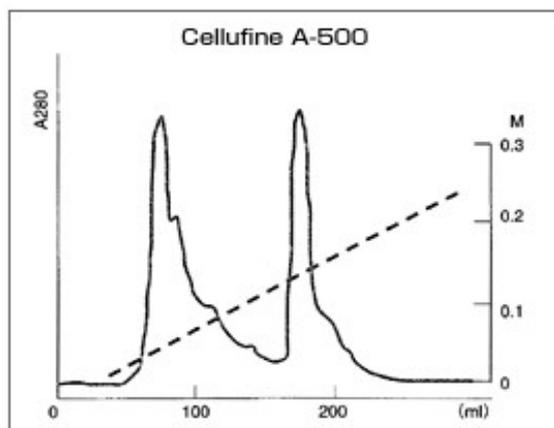
■ DEAE

Cellufine A-200
Cellufine A-500
Cellufine A-800



应用实例：

1. 人血清白蛋白与血色素



色谱柱：内径 15mm × 柱长 170mm

缓冲液：0.05M Tris-HCl (pH 8.3)

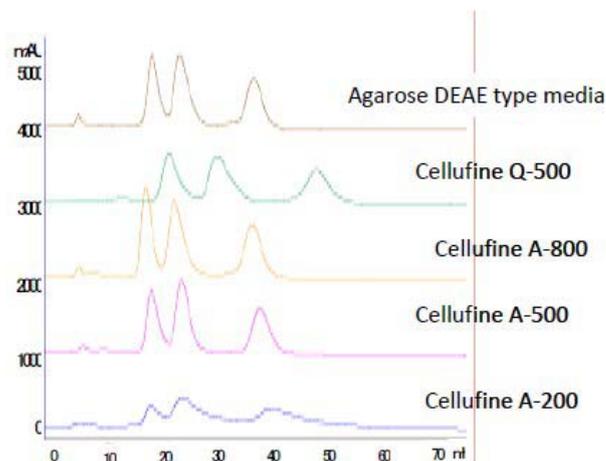
0~0.4M NaCl

梯度洗脱

流量：50ml/hr

样品：HAS 25mg、血色素 (25mg/ml 溶于缓冲液)

2. 转铁蛋白、牛血清白蛋白、胃蛋白酶



色谱柱：内径 5mm × 柱长 50mm

缓冲液 A：0.05M Tris-HCl (pH 8.5)

缓冲液 B：0.05M Tris-HCl (pH 8.5) 1M NaCl

(0→75%梯度洗脱)

流量：0.86ml/min

样品：转铁蛋白 5mg/ml、牛血清白蛋白 10mg/ml、
胃蛋白酶 5mg/ml

更多的应用例子浏览以下链接：

http://www.prep-hplc.com/products_detail02/&productId=5c613d0f-8964-474c-a9c3-82cc13d82935&comp_stats=comp-FrontProducts_list01-130397094666.html

同时，为了让大家有机会亲自体验 Cellufine 凝胶填料在纯化上的应用魅力，慧德易作为 JNC 公司 Cellufine 凝胶填料在中国的总代理，可提供免费样品供大家试用，数量有限，预试从速！请从以下链接下载试用表格：

http://www.prep-hplc.com/download_detail/&downloadsId=931422d0-3e26-460a-8c33-3288166d6847&comp_stats=comp-FrontDownloads_list01-001.html