

此说明仅限参考

羧甲基纤维素 CM-52/CM-32

羧甲基-纤维素CM-52/CM-32，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，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 10mm \times 100mm *柱床高 5cm，25 $^{\circ}$ C，流动相为纯水。

2 使用说明：

2.1 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。

(2) 称取适量的填料，用纯净水溶胀一小时装柱即可，或用热水溶胀半小时。溶胀好之后，用纯净水清洗 5 柱体积。

(3) 检查层析柱所有部件，特别是过滤网，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。

本产品仅用于科研

(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。打开柱子出液口，使凝胶在柱内自由沉降，连结好柱子顶端柱头。

(6) 打开蠕动泵，让缓冲液用使用时流速的 1.33 倍的流速流过，使柱床稳定（注意压力不要超过填料最大耐压）。

2.2 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）。

2.3 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	pK _a (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	Succinic acid	50	Na+	4.21
5.1-6.1	Succinic 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
7.8-8.8	BICINE	50	Na+	8.33

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

2.4 洗脱

本产品仅用于科研

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）的方式来洗脱。

2.5 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，或增加缓冲液 pH，然后在平衡缓冲液中重新平衡来进行再生。在一些应用中，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。

2.6 在位清洗（CIP）

通过用 5 倍柱床体积的 2M NaCl 溶液来除去结合的蛋白质。

通过用 2 倍柱床体积的 0.1M NaOH 溶液清洗填料，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。

3 保存

未使用的填料，4-25°C 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°C 保存。

4 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 0.45um 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。

（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。