

透析和透析袋的处理

透析只需要使用专用的半透膜即可完成。透析袋通常是将半透膜制成袋状,将生物大分子样品溶液置入袋内,将此透析袋浸入水或缓冲液中,透析袋内样品溶液中的大分子量的生物大分子被截留在袋内,而盐和小分子物质不断扩散透析到透析袋外,直到透析袋内外两边的浓度达到平衡为止。保留在透析袋内未透析出的样品溶液称为"保留液",透析袋(膜)外的溶液称为"渗出液"或"透析液"。透析袋透析的动力是扩散压,扩散压是由横跨膜两边的浓度梯度形成的。透析袋透析的速度反比于膜的厚度,正比于欲透析的小分子溶质在膜内外两边的浓度梯度,还正比于膜的面积和温度,通常是4℃透析,升高温度可加快透析速度。

透析膜可用动物膜和玻璃纸等,但用的最多的还是用纤维素制成的透析膜,目前常用的是美国 Union Carbide (联合碳化物公司)和美国光谱医学公司生产的各种尺寸的透析管,截留分子量 MwCO (即留在透析袋内的生物大分子的最小分子量,缩写为 MwCO)通常为 1万左右。商品透析袋制成管状,其扁平宽度为 23 mm~50 mm 不等。为防干裂,出厂时都用 10%的甘油处理过,并含有极微量的硫化物(0.1%)、重金属和一些具有紫外吸收的杂质,它们对蛋白质和其它生物活性物质有害,用前必须除去。

透析袋的处理:可先用 50% 乙醇煮沸 1 小时,再依次用 50% 乙醇、0.01 mol/L 碳酸氢钠和 0.001 mol/L EDTA 溶液洗涤,最后用蒸



馏水冲洗即可使用。实验证明,50%乙醇处理对除去具有紫外吸收的杂质特别有效。(也可先在大体积的2%(W/V)碳酸氢钠和1mmol/LEDTA(pH8.0)中将透析袋煮沸10分钟,用蒸馏水彻底清洗后,再放在1mmol/LEDTA(pH8.0)中将之煮沸10分钟。)使用后的透析袋洗净后可存于4℃蒸馏水中,确保透析袋始终浸没在溶液内。若长时间不用,可加少量NaN2,以防长菌。从此时起取用透析袋必须戴手套。洗净凉干的透析袋弯折时易裂口,用时必须仔细检查,不漏时方可重复使用。

新透析袋如不作如上的特殊处理,则可用沸水煮五至十分钟,再用蒸馏水洗净,即可使用。使用时,一端用橡皮筋或线绳扎紧,也可以使用特制的透析袋夹夹紧,由另一端灌满水,用手指稍加压,检查不漏,方可装入待透析液,通常要留三分之一至一半的空间,以防透析过程中,透析的小分子量较大时,袋外的水和缓冲液过量进入袋内将袋涨破。含盐量很高的蛋白质溶液透析过夜时,体积增加50%是正常的。为了加快透析速度,除多次更换透析液外,还可使用磁子搅拌。透析的容器要大一些,可以使用大烧杯、大量简和塑料桶。小量体积溶液的透析,可在袋内放一截两头烧园的玻璃棒或两端封口的玻璃管,以使透析袋沉入液面以下。

检查透析效果的方法是:用 1% BaCl2 检查(NH4)2SO4,用 1% AgNO3 检查 NaCl、KCl 等。