

羧基-琼脂糖凝胶4B说明书

货号: S9410

规格: 25mL

产品简介：

羧基-琼脂糖凝胶4B是通过环氧活化法将6-氨基己酸共价连接到琼脂糖凝胶4B上的，在10个碳原子间臂末端具有自由羧基，可以偶联含有伯氨基的配体。长长的间隔臂使它特别适合固定的小分子。

基质	4%的琼脂糖凝胶
配体	羧基
配体密度	10 μ moles carboxyl groups/ml
介质颗粒大小	45-165 μ m
最大流速	75 cm/h
pH范围	3-13
保存温度	4-8 $^{\circ}$ C
保存液体	20%乙醇

*检测条件： 层析柱 16mm \times 200mm *柱床高 5cm, 25 $^{\circ}$ C

使用说明（仅供参考）

1. 缓冲液制备

用于缓冲液制备的水和化学品应具有高纯度。使用前需要用0.45 μ m过滤器进行过滤。

2. 凝胶装柱

- （1）让所有的材料和试剂达到室温。配制初始缓冲液（平衡液）和洗脱缓冲液。
- （2）根据柱子大小取所需量的凝胶，用去离子水清洗掉 20%乙醇，用初始缓冲液（按凝胶：缓冲液=3：1 的比例）配成匀浆。
- （3）将柱内及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。
- （4）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。
- （5）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）。

3. 样品制备

样品应完全溶解。为了避免堵塞层析柱，建议用0.45 μ m过滤器进行离心和过滤，来去除细胞碎片或其他颗粒物质。

4. 上样

不同的物质对羧基琼脂糖 4B 的结合力不同。吸附载量将取决于样品浓度、流速、pH、缓冲液组成和温度等参数。为了获得吸附载量的最佳纯化，必须首先在不同 pH 和流速的范围内确定。样品 pH 应与结合缓冲液相同。样品上样完毕后，用结合缓冲液平衡柱子，直到基线稳定（流出液电导和 pH 不变）。

注意：样品用平衡液配制，样品一定要进行离心或过滤后再上样。盐浓度太大的样品需要进行处理后再配。

吸附条件取决于使用哪种配体，具体参考文献和教科书。

5. 洗脱

洗脱条件取决于使用哪种配体，具体参考文献和教科书。

（1）pH变化：pH的变化改变了结合位点处带电基团的电离程度。样品和填料的解吸一般受pH值下降的影响。

（2）离子强度：可使用线性梯度或阶梯梯度增加离子强度的方法进行洗脱。最经常使用的是NaCl，酶通常以1M或更低浓度的NaCl洗脱。

6. 再生

用 2-3 柱床体积的高 pH（0.1M Tris-HCl, 0.5M NaCl, pH8.5）缓冲液和低 pH（0.1M 乙酸钠, 0.5M NaCl, pH4.5）缓冲液洗涤填料来再生，循环应重复 3 次。随后用至少 5 倍柱体积的结合缓冲液重新平衡。

通过在缓冲液中加入 8M 尿素或 6M 盐酸胍可以去除强吸附的蛋白质。

7. 保存

在20%乙醇中，4℃下长期保存。

注意：

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。
2. 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 0.1 摩尔。
3. 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。