

精氨酸-琼脂糖4B

货号: S4560

产品说明:

精氨酸琼脂糖凝胶4B是通过环氧活化法将L-精氨酸固定在琼脂糖凝胶4B上的。L-精氨酸通过其 α -氨基偶联, 留下胍基和 α -羧基在层析过程中与样品物质相互作用。

精氨酸-琼脂糖凝胶 4B 用于纯化具有对 L-精氨酸有生物特异性或电荷依赖性的分子。例如, 前激肽释放酶, 纤溶酶原激活物, 凝血酶原和成熟促进因子等。

基质	4%的琼脂糖凝胶
配体	精氨酸
配体密度	10-20 $\mu\text{mol/ml}$
介质颗粒大小	45-165 μm
最大流速	75 cm/h
pH范围	2-13
化学稳定性	0.01 M HCl, 0.1 M NaOH
保存温度	+4-8 $^{\circ}\text{C}$
保存液体	20%乙醇

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

使用方法

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。使用前通过0.45 μm 过滤器过滤缓冲液。

2.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.样品的制备

样品应完全溶解。为了避免堵塞层析柱, 我们建议通过0.45 μm 过滤器进行离心和过滤, 以去除细胞碎片或其他颗粒物质。

4.上样

不同的物质对精氨酸琼脂糖 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，样品一定要离心或过滤后上样。盐浓度太大的样品需要处理后再配。

5.洗脱

(1) 特异性结合的生物分子可以通过竞争性洗脱来洗脱。竞争剂用于配体或靶分子的使用，例如缓冲液中的精氨酸将洗脱特异性结合的物质。

(2) 较不特异结合的生物分子可以用增加的离子强度的方式洗脱。洗脱通常在 NaCl 浓度为 2M 以下的溶液中完成。可以使用阶梯或线性梯度。

(3) 通过加入二恶烷（最多 10%）或乙二醇（最高达 50%）降低洗脱缓冲液的极性可用于洗脱结合物质。

(4) 另一种替代洗脱方法为：使用作为变性剂的尿素或盐酸胍来进行洗脱

6.再生

根据样品的性质，精氨酸琼脂糖 4B 可以通过用 2-3 床体积的高 pH (0.1M Tris-HCl, 0.5M NaCl, pH8.5) 缓冲液和低 pH 值 (0.1M 乙酸钠, 0.5M NaCl, pH4.5) 缓冲液交替洗涤填料来再生。该循环应重复 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。

强吸附的蛋白质也可以通过用 2-3 床体积的 0.1M NaOH 去除，然后用大量纯水洗掉碱。

7.保存

在 20% 乙醇中，4℃ 下长期保存。

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。
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。碱会使流速变慢。
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。