

蓝色琼脂糖凝胶

1 简介

本产品将蓝色染料偶联到交联及活化的琼脂糖凝胶上，该填料具有很高的化学稳定性。蓝色琼脂糖凝胶与目标蛋白的结合主要是配基提供的电子对作用与疏水作用的综合结果。该亲和色谱填料应用范围很广泛，可适用于白蛋白、干扰素、 $\alpha 2$ 巨球蛋白、凝血因子及各种需要NAD⁺和NADP⁺的酶的分离纯化。

本产品稳定性好，基团脱落少，使用寿命长，使用方便，应用广泛。

2 亲和填料特性

特点	基团脱落少，结合特异性强
基质	6%的交联琼脂糖凝胶
配基	蓝色染料
配基密度	≈10 μmol/ml
吸附载量	20 mg BSA /ml
亲和填料的颗粒大小	45-165μm
最大流速	300cm/h
pH范围	3-10，在位清洗时pH范围可到2-13
使用温度	4℃~常温
保存温度	4~8℃
保存液体	20%乙醇

3 适用范围

蓝色琼脂糖凝胶适用可适用于白蛋白、干扰素、 $\alpha 2$ 巨球蛋白、凝血因子及各种需要NAD和NADP的酶的分离纯化。

4 应用实例

实验名称：从发酵液中去除牛血清白蛋白

实验步骤:

- (1) 蓝色琼脂糖凝胶装柱, 1.6×20cm, 柱床体积为15ml;
- (2) 用缓冲液1平衡5-10个床体积, 流速为4ml/min;
- (3) 含牛血清白蛋白的样品离心, 用缓冲液1进行1:1稀释, 0.45μm滤膜过滤, 上样。流速为2ml/min;
- (4) 用缓冲液1再洗5-10个床体积, 流速为2ml/min;
- (5) 用缓冲液2洗脱, 流速为2ml/min, 收集洗脱峰;
- (6) 用纯水流洗5个柱床体积, 再用20%的乙醇流洗5个柱床体积, 流速为4ml/min, 柱子置于4~8℃环境中保存;
- (7) 将分离纯化的BSA进行SDS-PAGE电泳分析。

缓冲液组成:

缓冲液1: 50mM KH_2PO_4 , pH7.0。缓冲液2: 50mM KH_2PO_4 , 1.5M KCl, pH7.0。

注: 以上缓冲液须经0.22 μm滤膜过滤。所得结果如下图:

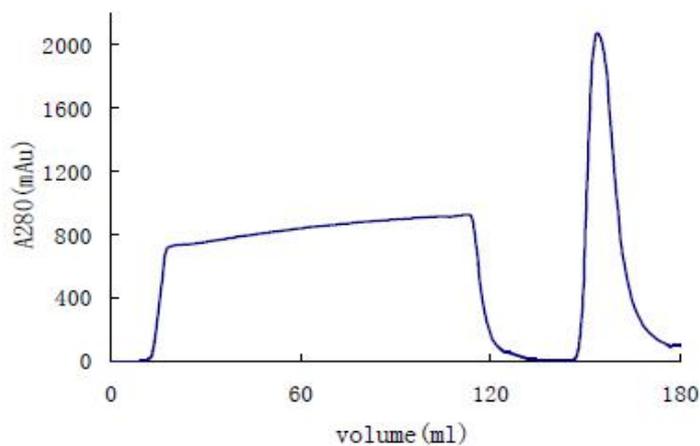


图1 蓝色琼脂糖凝胶 6B FF 亲和色谱分离 BSA

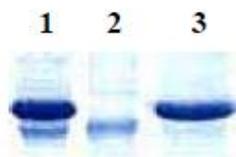


图2 SDS-PAGE电泳结果

1: 样品, 2: 穿透, 3: BSA洗脱峰

5 亲和填料应用的注意事项

(1) 该凝胶从冷室或冰箱中取出后最好在室温下缓慢振摇恢复到室温，然后再装柱，以免产生气泡影响柱效。

(2) 第一次使用得先用20%的乙醇洗5个柱床体积，然后再用2M NaCl洗5个柱床体积，洗去残留的染料，再平衡使用。

(3) 上样样品必须与缓冲液1的pH、电导相同。

(4) 蓝色琼脂糖凝胶亲和填料的再生处理方法：用0.5M NaOH含2M NaCl流洗3个床体积，最后用20%乙醇洗 3个床体积即可。

(5) 该亲和填料保存条件为20%乙醇， 4~8℃。

特别注意：

上样之前，样品必须去除色素，否则色素会被吸附到填料上，影响填料的正常使用。