

## 琼脂糖凝胶 4FF

货号: AC15788

规格:50ml/100ml/500ml

保存:4℃~25℃, 5年。

### 产品简介:

琼脂糖凝胶 4FF 是在琼脂糖凝胶 4B 的基础上经过两次交联形成的高交联基质, 微球的化学稳定性及物理性能显著增强, 刚性增加, 流速更快, 使产品处理时间大大缩短。可用于生物大分子的凝胶层析。

### 1. 外观

本品为白色球状凝胶, 无嗅、无味、无肉眼可见杂质。

### 2. 理化指标

项 目	指 标
基 质	4% 交联琼脂糖
排阻极限	$6 \times 10^4 \sim 2 \times 10^7$ (球蛋白)
形状	球形
粒径	45~165 $\mu\text{m}$
最高流速	300 cm/h *
耐压	0.30 MPa
pH 适用范围	2~14 (短时间, 在位清洗), 2~12(长时间)
化学稳定性	以下溶液中 40℃ 下稳定: 2mol/L NaOH; 70% EtOH; 30% 异丙醇; 30% 乙腈; 1% SDS; 6mol/L 盐酸胍; 8mol/L 尿素

\*检测条件: 层析柱 10mm×300mm \*柱床高 15cm, 25℃, 流动相为 0.1mol/L NaCl

### 3. 贮存

产品应密封贮存在 4℃~25℃ (保存溶液为 20% 乙醇), 通风、干燥、清洁的地方。不能冷冻。用过的柱子贮存在 4℃ (20% 乙醇)。

### 4. 注意事项

本品应避免与氧化剂接触, 避免长时间暴露在空气中。运输中应避免日晒、雨淋、重压, 严禁与有毒、有害物品混运。

### 5. 应用

本产品具有很高的化学稳定性、高流速、较好的机械性能、可多次重复使用等特点, 非特异性吸附低, 回收率高, 可用有机溶剂及 1~2mol/L 的 NaOH 在位清洗, 适用于工业规模生产, 广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的凝胶色谱纯化。

#### 5.1 装柱

凝胶过滤介质的使用对装柱的要求较高, 为了保证分离效果, 一般通过柱子上加一个装柱器来使分离柱装满凝胶, 或采用带有轴向加压装置的柱子。凝胶柱床一般高于 60cm。装柱效果可用染料或丙酮-水溶液进行检验。以下过程为通用介质装填过程。若为带有轴向加压装置的柱子, 可在柱床稳定后将柱床压紧, 接好管路。

- (1) 让所有的材料和试剂达到室温。配制缓冲液。凝胶层析上样、平衡和洗脱只用一种低盐浓度的缓冲液。
- (2) 选择一根一定直径的柱子，长约 30~60cm,根据柱子大小取所需量的凝胶（约为柱床体积的 1.15 倍），清洗掉 20%乙醇，抽干，用缓冲液（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（液面略高于滤膜），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。用缓冲液平衡柱子，到柱床稳定。
- (6) 最好用一个装柱器辅助装柱。装完后柱床上端轻轻刮平，上好柱头。

## 5.2 平衡

让缓冲液以一定流速流过柱子，到流出液电导和 pH 不变。

## 5.3 上样

- (1) 样品用缓冲液配制，浑浊的样品要离心和过滤后上样。含盐量过大、浓度过小的样品要先做处理，再上样。
- (2) 介质对样品组分的分离是按组分分子量大小进行的，分子量大的先流出来。
- (3) 上样体积约为柱体积的 1~2%，越小分离越好。

## 5.4 洗脱

用缓冲液洗脱，洗脱中保持流速、缓冲液组成不变。

## 5.5 再生

一般用缓冲液洗到平衡，可再次使用。

## 5.6 注意

在装柱、使用和保存柱子的时候，始终要避免柱子流干气泡进入。若有失活蛋白质或脂类物质在再生时洗不掉，可用在位清洗（CIP）除去。

## 5.7 在位清洗

- (1) 对于以离子键结合上去的蛋白，可以用 2M NaCl 去除。
  - (2) 对沉淀蛋白、对以疏水性结合的蛋白或脂类，可用 1M NaOH 去除。
  - (3) 对强疏水性结合的蛋白、脂类等，用 4~10 倍柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗，但要注意有机溶剂的浓度以梯度的方式逐渐增加，否则容易产生气泡。
- 清洗完毕后，用至少 3 倍缓冲液平衡柱子。

## 5.8 注意

在装柱、使用和保存柱子的时候，要避免柱子流干气泡进入。

## 5.9 去热源

用 0.5M 的氢氧化钠清洗柱子 5~6 小时或用 0.1M 的氢氧化钠 24 小时。或用以下方法步骤去除：

- (1) 2 倍柱体积的 70%乙醇；
- (2) 2 倍柱体积 50mM Tris-HCl pH7.5；
- (3) 1 倍柱体积 4M 尿素；
- (4) 3 倍柱体积的 Tris 缓冲液+0.1M NaCl；

以上缓冲液都在无热源的双蒸水中配制。

## 5.10 消毒

用 0.5~1M NaOH 室温下洗 8~10 倍柱体积，初始缓冲液平衡柱子。

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。