

明胶-琼脂糖凝胶 4FF

货号：AC15811

明胶-琼脂糖凝胶 4FF 是采用溴化氰法将明胶耦合到琼脂糖凝胶 4FF 基质上的一种亲和层析填料。明胶是一种高分子糖蛋白，在多种细胞的表面和许多细胞外液（包括血浆）中都发现了明胶的存在，它可以特异性的结合纤维连接蛋白。明胶琼脂糖凝胶 4FF 是专为纯化或除去纤维连接蛋白的一种亲和层析填料。

1 技术指标

技术参数	
基质	高度交联的 4%琼脂糖凝胶
颗粒大小	45-165 μ m
平均颗粒大小	90 μ m
配基	牛明胶衍生物
配基密度	约 5mg 明胶/ml 填料
连接化学基团	CNBr
最大流速	200 cm/h
耐压	0.1Mpa
pH稳定性	3-10
化学稳定性	所有常用的水相缓冲液
保存温度	4~8 $^{\circ}$ C
保存液体	20%乙醇

2 使用方法

2.1 准备凝胶

- (1) 让凝胶和所有的试剂达到工作时的温度。
- (2) 配制初始缓冲液（平衡液）和洗脱缓冲液。
- (3) 明胶琼脂糖凝胶 4FF 是保存在 20%的乙醇溶液中，取适量凝胶，清洗掉 20%的乙醇，抽干。用缓冲液（按凝胶：缓冲液=3：1 的比例）配成匀浆。

2.2 装柱

- (1) 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。
- (2) 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。

(3) 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 2~3 倍柱体积的缓冲液平衡柱子。

2.3 平衡

让平衡缓冲液以一定流速流过柱子，到流出液电导和 pH 不变。

2.4 上样

(1) 样品用平衡液配制，常用磷酸盐缓冲液或 Tris-HCl 缓冲液，浑浊的样品要离心和过滤后上样。

(2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上，用平衡液洗去杂质，再选择一种洗脱液洗下目标产品。

2.4 洗脱

明胶-琼脂糖凝胶 4FF 可以采用不同的方式洗脱纤维连接蛋白：

(1) 使用含有溴盐的缓冲液，例如溴化钠或溴化钾，并在低于平衡缓冲液 pH 值的条件下洗脱。一种推荐的洗脱缓冲液是：0.05 M 的醋酸钠，pH 值 5.0，含 1.0 M 的溴化钠或溴化钾。

(2) 可以在平衡缓冲液中加入 8 M 的脲，来洗脱吸附在凝胶上的纤维连接蛋白。

(3) 纤维连接蛋白还可以通过平衡缓冲液中添加精氨酸来进行洗脱。

2.6 再生

根据样品的性质，明胶琼脂糖凝胶 4FF 可以再生，以达到重复使用的目的。可以采用 2-3 柱体积的高 pH 值 (0.1 M 的 Tris - HCl, 0.5 M NaCl, pH 值 8.5) 的缓冲液和低 pH 值 (0.1 M NaAc, 0.5 M NaCl, pH 值 4.5) 的缓冲液交替清洗凝胶。一个周期重复 3 次，然后用 3-5 倍柱体积的平衡缓冲液平衡，即可进行下次试验。如果在纯化过程中使用了洗涤剂或变性剂 (如 8 M 尿素)，那么这些洗涤剂也可以用于洗脱缓冲液中。

2.7 清洗

在一些应用中，像变性的蛋白质或脂类这样的样品，在再生过程没有被洗脱下来，可以通过加入一些洗涤剂，例如：0.1% 的 Triton X-100，在 37°C 的条件下洗一会。立即用至少 5 倍柱体积的结合缓冲重新平衡。

2.8 储存

明胶-琼脂糖凝胶 4FF 应储存在 4-8°C，20% 的乙醇溶液中。

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。