

葡聚糖凝胶使用说明

1 化学和物理性质

葡聚糖凝胶是一种珠状的凝胶，含有大量的羟基，很容易在水中和电解质溶液中溶胀。亲水基质使其非特异性吸附最小化，并在生物分子分离期间得到较高的回收率。G型的葡聚糖凝胶有各种不同的交联度，因此它们的溶胀度和分级分离范围也有所不同。葡聚糖凝胶的溶胀度基本上不因盐和洗涤剂的存在而受影响。

葡聚糖凝胶有不同的粒度。超细级的葡聚糖凝胶是用于需要极高分辨率的柱色谱和薄层色谱。粗级和中级的凝胶用于制备性色谱过程，可在较低的压力下获得较高的流速。另外，粗级也可用于批量工艺。

2 产品说明

产品名称	分离范围（球蛋白）	应用
葡聚糖凝胶 G-10	<700	缓冲液交换、脱盐，分离小分子，去除小分子
葡聚糖凝胶 G-15	<1500	缓冲液交换、脱盐，分离小分子，去除小分子
葡聚糖凝胶 G-25	1000-5000	工业上脱盐及交换缓冲液
葡聚糖凝胶 G-50	1500-30000	多肽分离、脱盐、清洗生物提取液、分子量测定
葡聚糖凝胶 G-75	3000-80000	蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定
葡聚糖凝胶 G-100	4000-150000	蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定
葡聚糖凝胶 G-150	5000-300000	蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定
葡聚糖凝胶 G-200	5000-600000	蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定

3 使用方法

Sephadex 系列产品以干粉形式存在，使用前必须溶胀，在膨胀期间应避免过度搅拌，因为它可能破坏填料，不要使用磁力搅拌器。

3.1 填料的准备

(1) 将填料在过量去离子水或缓冲液中，室温条件下膨胀 3 小时，或用热水膨胀 1 小时。洗脱缓冲液不应含有高粘度的试剂。溶胀过程中，如果上层有碎胶，请去除。

(2) 将溶胀好的填料，所有的缓冲液等材料平衡至实验操作温度。

3.2 装柱

(1) 检查层析柱所有部件，特别是过滤网，密封圈，螺旋塞是否紧密，玻璃管是否干净和完整。

(2) 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。

(3) 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。

(4) 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）。

3.3 平衡

上样前平衡层析柱至少 5-10 个柱体积直到记录仪基线变得平稳为止（流出液的 PH 值和等电点等于上柱的 Buffer 的 PH 值和等电点）。

3.4 上样

样品一定要离心或过滤后（0.45um）上样。

凝胶过滤的上样量一般为不大于 5% 的柱床体积，我们建议初次上样控制在 1-2% 的柱床体积，视分离情况可以调整；脱盐时上样量可以达到 20% 的柱床体积，柱高的选择也与分离要求相关，柱高过高的凝胶层会引起较大的反压，应当尽可能避免。难分离物质要有一定柱高和流速控制，脱盐时高径比为 5: 1 即可。

3.5 洗脱方法

可以用无盐水，也可以采用上柱时的缓冲液洗脱；在上柱 Buffer 中加入 NaCl 等梯度洗脱或盐梯度洗脱也可以完全分离纯化。

3.8 在位清洗（CIP）

凝胶使用十次后作一次 CIP，目的是去除柱床内沉淀的及顽固残留的蛋白。方法是以 40cm/h 用 0.1 M 氢氧化钠洗四个柱体积，再以至少三个柱体积平衡缓冲液再生。

4 保存

使用完的填料，用纯水将盐分彻底冲洗，最后保存在 20%乙醇中，4℃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 0.15 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。