

Geldex 75 PG 高分辨琼脂糖凝胶层析填料(3-70 kDa)

产品信息

| 产品名称 | 产品编号 | 规格 |
|---|-----------|--------|
| Geldex 75 PG 高分辨琼脂糖凝胶层析填料 (3-70 kDa) | 20597ES60 | 100 mL |
| | 20597ES64 | 150 mL |
| | 20597ES70 | 200 mL |
| | 20597ES75 | 300 mL |
| | 20597ES76 | 500 mL |

产品描述

Geldex 75 PG 以高交联度琼脂糖为骨架,以交联葡聚糖为填充,兼具葡聚糖的高选择性和琼脂糖的物理性能,分辨率高、硬度大、流速快,柱床随缓冲液浓度变化小,化学性质稳定,非特异性吸附低,回收率高,易于放大,是精细纯化阶段的良好选择。

产品性质

| | |
|--------|---|
| 基质 | 高度交联的琼脂糖和葡聚糖 |
| 分离范围 | 0.5-30 kDa (线性蛋白), 3-70 kDa (球蛋白) |
| 粒径 | 24-44 μm |
| 最大耐压 | 0.3 MPa |
| 最大流速 | 100 cm/h |
| 使用流速 | 30-50 cm/h |
| PH 稳定性 | 3~12 (工作), 1~14 (CIP, 短期) |
| 化学稳定性 | 0.2M NaOH、8M 尿素、6M 盐酸胍、30%异丙醇、1%SDS、30%乙腈 |
| 灭菌 | 0.5M NaOH 2 h, 或者 121 $^{\circ}\text{C}$ 30 min |
| 储存缓冲液 | 20%乙醇, 4~30 $^{\circ}\text{C}$ |

运输和保存方法

- 1.使用后的Geldex 75 PG应储存于20%乙醇中,为了防止乙醇挥发以及微生物生长,建议3个月更换一次新鲜的20%乙醇。
- 2.放置在4~8 $^{\circ}\text{C}$ 冷库中保存效果更好;有效期5年。

注意事项

- 1.冻结可能破坏介质内部结构。
- 2.装柱前最好将介质悬液平衡到室温。
- 3.为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 4.本产品仅作科研用途!

使用方法

1 装柱

1.1 层析柱装填

- 1) 根据层析柱的体积计算需要的 Geldex 介质的量: 需要的沉降体积=柱体积 \times 1.15 (即压缩比为 1.15)。
- 2) 置换溶液,将胶悬液倒入布氏漏斗,抽去液体,并用约 3 倍体积的蒸馏水洗涤,(当体积比较大或者条件不具备的时候

也可以采用待胶分层后抽去上层溶液，再加入适量蒸馏水搅匀，等到分层后抽去，反复 3 次的方法置换介质溶液)

- 3) 胶悬液准备，加入沉降胶体积的二分之一到一倍的蒸馏水（可以加入 0.1%的 Tween20 可以提高装柱的效果）搅匀备用。
- 4) 取清洗干净的 YXK 层析柱（YXK 系列层析柱的直径从 1 cm 到 45 cm 的不同规格可以满足不同规模大小的层析应用），排净柱底膜气泡，并在柱子底部保留 1 cm 高左右的水柱，调整柱子使其垂直于地面。
- 5) 将搅匀后的胶悬液一次缓慢倒入层析柱内（必要时使用装柱器），注意不要带入气泡，倒入后用塑料棒再次搅匀。
- 6) 将上柱头连接到层析系统或者蠕动泵，排净上柱头筛网下面的气泡（对于直径小于 20 cm 的层析柱可以采用将柱头翻转向上后用蠕动泵或者洗耳球吸去筛网下面的气泡），将柱头放入层析柱内，晃动柱头使气泡从柱头边缘排出，旋紧密封旋钮（对于直径>30 cm 的层析柱，先将密封圈不要旋的太紧，下压轴头让柱体内的液体通过柱头反出以排出柱头内的气泡，然后再旋紧密封旋钮）。
- 7) 按照 30 cm/h 的速度设定好流速，启动泵压柱至胶面稳定（一般在 1.5~2 h）。
- 8) 去掉装柱器（如果有的话），重新安装柱头，将压力设在 0.5 MPa，采用恒压调速的方式压柱 1 h，标记此时的柱床高度。
- 9) 并将柱头压至胶面标记位置下面 5 mm，装柱完成。

1.2 柱效评价

1) 柱效测定可以采用丙酮作为指示剂或者 NaCl 作为指示剂，按照下表配制指示剂溶液和流动相。

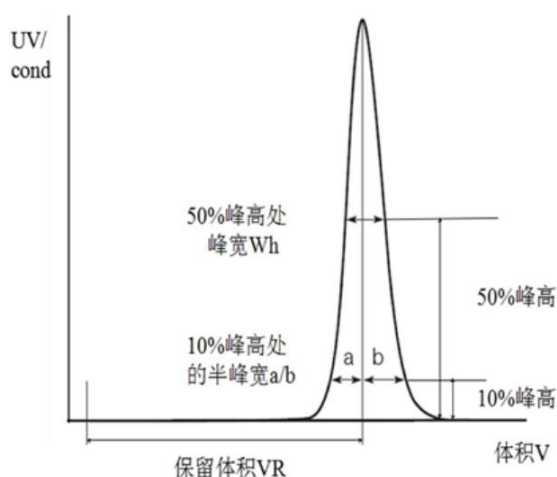
| | 丙酮法测柱效 | NaCl 法测柱效 |
|------|------------------|------------------|
| 样品 | 1.0% (v/v) 丙酮水溶液 | 0.8 M NaCl (溶于水) |
| 样品体积 | 1.0%柱体积 | 1.0%柱体积 |
| 流动相 | 水 | 0.4 M NaCl 水溶液 |
| 流速 | 20 cm/h | 20 cm/h |
| 检测器 | UV 280 nm | 电导率 |

2) 计算柱效：根据 UV 或者电导率曲线计算理论塔板高度 (HETP)、理论塔板数 (N) 和非对称因子 (As)，公式如下：

$$HETP=L/N ; N=5.54(VR/Wh)^2$$

其中：VR=保留体积；Wh=半高峰宽；L=柱高；N=理论塔板数；VR 和 Wh 的单位应一致；As=b/a

其中：a=在 10%峰高处的第一个半峰宽； b=在 10%峰高处的第二个半峰宽



3) 结果评价

由以上公式计算出的 HETP 的数值若小于三倍介质平均颗粒大小且非对称因子在 0.7~1.3 则判定为合格（对于 Geldex 介质每米的塔板数应该大于 10000）。对于不理想的柱效需要分析原因并重新装柱。

2 纯化流程

2.1 层析柱预处理

对层析柱进行预处理，即采用 0.1~0.5 M 的 NaOH 对层析柱处理 4 小时以上以达到清洗、消毒和去除热源的目的。

2.2 平衡

使用 2~3 倍柱体积的上样平衡液平衡柱子，建议在平衡缓冲液中加入至少 0.15 M 的 NaCl。

2.3 样品准备

样品需要过 0.45 μ m 以下的滤膜，粘度太高时可以适当稀释，蛋白浓度一般不超过 70mg/mL。

2.4 上样

一般加载 0.5~2% 柱体积的样品量，根据分离效果可以适当调整上样体积。

2.5 洗脱

继续用平衡缓冲液冲洗层析柱，收集流出的不同组分，至不再有生物分子流出，一般需要 1~1.5 个柱体积。

3 清洗与再生

- (1) 先用 1 倍柱体积的 1 M NaCl 去除。
- (2) 对于变性的蛋白的去除，采用 1 M NaOH 以 20 cm/h 流速冲洗 2 个柱体积。
- (3) 对于脂类或脂蛋白的去除，用 4 倍柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗，需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。
- (4) 对于无机污染物的去除，采用 0.5 M 的醋酸冲洗 2 个柱体积。
- (5) 最后用 4 倍柱体积的蒸馏水冲洗。