

琼脂糖凝胶CL-6B

货号: AC15760

规格: 10ml/50ml/100ml/500ml

一、简介

琼脂糖凝胶CL-6B是在琼脂糖凝胶6B的基础上通过交联使微球的刚性增强,理化性能提高,有利于工业生产。该介质用于生物大分子的凝胶层析。

本品呈白色球状凝胶,无嗅、无味、无肉眼可见杂质。

二、亲和填料特性

项 目	指 标
基 质	6%交联琼脂糖
排阻极限	10000~4×10 ⁶ (球蛋白)
形状	球形
粒径	45~165 μm
最高流速	30 cm/h*
耐热	pH7 水中 120℃20min
耐压	0.025 MPa
pH 稳定性	3~13(长时间), 2~14(短时间, 在位清洗)
化学稳定性	可耐 8mol/L 尿素、6mol/L 盐酸胍;可耐有机溶剂,如乙醇、DMF、THF、DMS、CH ₃ Cl、丙酮、二甲基甲酰胺、二氯乙烷、吡啶、乙腈

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

三、适用范围

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。

四、注意事项

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)。

本产品避免与氧化剂接触;避免长时间暴露在空气中。

保质期: 5 年。

五、操作步骤:

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，联结好柱子顶端柱头。

(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。

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。

3、上样

(1) 样品用缓冲液配制，浑浊样品要离心过滤后上样。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。

4、洗脱

用缓冲液洗脱，洗脱中保持流速、缓冲液组成不变。

5、再生

一般用缓冲液洗到平衡，可再次使用。

6、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。

7、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。

8、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。

9、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。