上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

环氧活化高流速 6B 琼脂糖微球（Epoxy activated Bio-sep6FF）

产品说明书

环氧活化高流速 6B 琼脂糖微球是将环氧基团键合在琼脂糖微球 6FF 上冻干形成的一种活性中间体，可直接偶联配基制备分离介质，用于生物大分子的纯化分离。

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
配　　基	环氧基
基　　质	高流速 6%琼脂糖微球
颗粒形状及大小	球形　50~160 μm
配基密度	20~40μmol 环氧基/ml 介质
最高流速（25℃）	300 cm/h*
耐压	0.2 MPa
pH 适用范围**	2~14
化学稳定性**	以下溶液中稳定： 0.1mol/L NaOH; 6mol/L 盐酸胍；8mol/L 尿素;4 mol/L 氯化钠 一般有机溶剂；非离子型表面活性剂

*检测条件：　层析柱 16mm×300mm　*柱床高 15cm,25℃，流动相为 0.1mol/LNaCl

**是指偶联配基后的分离介质的性能

3．运输

运输中应避免日晒、雨淋、重压，严禁与有毒、有害物品混运。

4．　贮存

冷冻干燥的产品应密封贮存在 8℃以下，对于溶胀的偶联后的介质应保存于 4℃～8℃通风、干燥、清洁的地方。避免与氧化剂接触。

用过的柱子贮存在 4℃（20%　乙醇）。

5．保质期：暂定 2 年。

6．应用

环氧活化琼脂糖微球 FF 是将环氧基团键合在琼脂糖微球 6FF 上冻干形成的一种活性中间体，可直接偶联含氨基、巯基和羟基的配基制备分离介质，用于生物大分子的纯化分离。

下面简要介绍环氧活化琼脂糖微球偶联含氨基配基的使用过程。

6.1 干粉的溶胀

称取一定量的环氧活化高流速琼脂糖微球冻干粉，在蒸馏水中悬浮溶胀（1g 干粉约溶胀为 3～4ml 凝胶），放置大约 1 小时后抽滤，并用约 200ml（PH 7）去离子水洗涤干净其中的添加剂，并在漏斗中抽干。

6.2　配基的偶联

一般配基偶联的过程如下：

（1）偶联溶剂：可用去离子水、碳酸盐缓冲液和磷酸盐缓冲液。不能用含氨基和其他含亲核试剂的溶液。有时需要有机溶剂溶解配基，如用 50%二甲基甲酰胺和二氧六环等。

（2）取一定量的配基溶解到偶联用的缓冲溶液中，使其完全溶解，最低浓度为 200μmol 配基/ml 凝胶。凝胶与缓冲溶液以 1：0.5 到 1：1 的比例混合悬浮反应。

（3）将溶胀的凝胶悬浮到含有配基的缓冲溶液中，在 20℃~45℃的水浴中摇荡 16 小时。也可以用其他搅拌方法使配基偶联，请勿用磁力搅拌。

（4）反应完全后，再洗涤掉缓冲液中的多余的配基。

（5）残余活性基团的消除，将反应完洗涤过的凝胶悬浮到 1mol/L 乙醇胺（PH 8）的溶液中，在 40℃~50℃最少反应 4 小时或者室温反应过夜。

（6）在反应完后，用含有 0.5mol/LNaCl 的 0.1mol/L 醋酸缓冲液（PH 4.0）和含有 0.5mol/LNaCl 的偶联缓冲液（PH 8.3）交替洗涤，至少重复以上循环洗涤 3 次。

6.3 装柱

⑴让所有的材料和试剂达到室温。配制初始缓冲液（平衡液）和洗脱缓冲液。

⑵根据柱子大小取所需量的凝胶，清洗掉溶液，抽干，用初始缓冲液（按凝胶：缓冲液=3：1 的比例）配成匀浆。匀浆作脱气处理。

⑶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。

⑷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。

⑸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。

6.4 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。平衡缓冲液一般是根据需要纯化的蛋白来决定用哪种缓冲液。

6.5 上样

⑴样品用平衡液配制，浑浊的样品要离心和过滤后上样。

⑵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。

⑶介质对样品组分吸附的程度取决于介质配基的亲和作用、样品的亲和性质、流动相的组成和温度。

(4)再用缓冲液平衡到流出液电导和 pH 不变。

6.6 洗脱

洗脱液也要根据需要纯化的蛋白决定。

6.7 再生

对于使用之后的凝胶，以 2~3 倍柱体积的 0.1mol/L Tris·HCl+0.5mol/L NaCl（PH=8.5）和 0.1mol/L NaAc+0.5mol/L NaCl（PH=4.5）依次反复冲洗 3~4 次，进行再生。

6.8 在位清洗

根据偶联的配基选择在位清洗的方法，以洗去柱子污染物同时不伤害柱子为原则。对于一般的污染，用 0.1mol/L NaOH 进行较长时间的清洗，对配基基本没有的影响；当严重污染后，可用 0.5mol/L NaOH 进行短时间的清洗；对于介质中含有其他试剂的，可用含有 8 mol/L 尿素和 6 mol/L 的盐酸胍的溶液进行在位清洗。若有失活蛋白或脂类物质洗不干净，可用非离子表面活性剂如 0.1% Triton 洗涤。

清洗完毕后，用至少 3 倍缓冲液平衡柱子。

6.9 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。