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

赖氨酸琼脂糖凝胶 4B

赖氨酸琼脂糖凝胶 4B 用于纯化对 L-赖氨酸具有生物特异性或电荷依赖性的生物分子，已被用于纤溶酶 原和纤溶酶原激活物的分离，核糖体 RNA（rRNA）的分离和双链 DNA 的纯化。

1 填料性质

基质	4%的琼脂糖凝胶
配体密度	3-7 μmol /ml
吸附载量	0.4-0.6 mg 人纤维蛋白溶酶原/ ml 填料
介质颗粒大小	45-165μm
最大流速	75 cm/h
pH 范围	2-11
化学稳定性	0.01 M HCl， 0. 1 M NaOH

*检测条件： 层析柱 10mm×200mm *柱床高 5cm，25℃

2 使用方法

2.1 装柱

（1）让所有的材料和试剂均平衡至层析实验的温度。配制缓冲液，对所有的缓冲液进行脱气处理。

（2）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。

（3）根据需要量取相应量的凝胶，用去离子水清洗掉 20%乙醇。

（4）将柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位，务必使底端无气泡。

（5）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。

2.2 样品的制备

样品应完全溶解，为了避免堵塞层析柱，我们建议通过 0.45μm 过滤器进行离心和过滤，以去除细胞碎 片或其他颗粒物质。

2.3 平衡色谱柱

用 5-10 个柱体积的结合缓冲液平衡该柱，直到流出液电导和 pH 不变。常用的结合缓冲液是 20-50 mM 缓 冲液，pH7.5。

2.4 上样

（1）样品用平衡液配制，样品一定要离心或过滤后上样。盐浓度太大的样品需要处理后再上样。

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

2.5 洗脱

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。常用的洗脱缓冲液是，结合缓冲液加入 2 M NaCl。

建议在每使用 5 次之后，用含有 50mM 磷酸盐缓冲液，pH7.5，0.2 M 的ε-氨基己酸，1M NaCl 洗涤填料，清洗纤溶酶原。ε-氨基己酸可以通过脱盐柱除去。

3 再生

根据样品的性质，赖氨酸琼脂糖 4B 可以通过用 2-3 床体积的高 pH（0.1M Tris-HCl，0.5M NaCl，pH8.5）缓冲液和低 pH 值（0.1M 乙酸钠，0.5M NaCl，pH4.5）缓冲液交替洗涤填料来再生。该循环应重复 3 次，随后用至少 5 倍柱体积的结合缓冲液重新平衡。

纤溶酶原纯化后，培养基应通过用几个床体积的含有 1M NaCl 和 0.2M 的ε-氨基己酸的 50mM 磷酸缓冲液（pH7.5）洗涤来再生。

核酸纯化后，用至少 5 床体积的含有 2M NaCl 的 50mM 磷酸缓冲液（pH7.5）清洗填料。

4 保存

2-8℃密闭保存。使用完的填料，用纯水彻底冲洗，最后保存在 20%乙醇中，4℃保存。

5 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。所有的缓冲液均需要用 0.45um 的过滤器过滤。

（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 0.1 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。