

琼脂糖凝胶 4FF

琼脂糖凝胶 4FF 是用 4%浓度琼脂糖制备成的球型颗粒，作为凝胶层析介质使用。

1 理化指标

项 目	指 标
基质	4%琼脂糖凝胶
排阻极限	3×10^7 (球蛋白)
粒径	45~165 μm
最大流速	250cm/h*
耐压	0.3 MPa
pH 适用范围	2-12 (长时间)，2-14 (短时间)
化学稳定性	可耐 8mol/L 尿素、6mol/L 盐酸胍

*检测条件：层析柱 10mm×300mm *柱床高 5cm，25℃，流动相为 0.1mol/L NaCl。

2 贮存

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），保质期：2 年。

3 应用

本产品为传统的琼脂糖介质，具有非特异性吸附低，回收率高，可多次重复使用等特点，用于分子量差异大、对分辨率要求不高的样品的凝胶层析纯化。

3.1 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。
- （6）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）。

3.2 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 值和电导值等于上柱 Buffer 的 pH 值和电导值）。

3.3 上样

(1) 样品用平衡液配制，样品一定要离心或过滤后上样（0.45um 滤膜），如果样品盐浓度太大，则需要处理后再上样。

(2) 推荐的上样量不超过柱体积的 5%。

3.4 洗脱

用缓冲液洗脱，洗脱中保持流速、缓冲液组成不变。

3.5 再生

一般用缓冲液洗到平衡，可再次使用。在一些应用中，诸如变性蛋白质或脂质体物质在再生过程中洗脱不掉。出现下面这些情况，是必须需要清洗再生的：

- (1) 背压增加；
- (2) 色谱柱顶部的颜色变化；
- (3) 分辨率降低；
- (4) 转换接头和凝胶表面之间出现空隙。

如果观察到压力增大，在开始柱清洁程序之前先检查管路中的各个过滤阀、过滤膜是否被污染，然后通过用 0.1M NaOH 洗涤柱子，除去沉淀的蛋白质，非特异性结合的蛋白质和脂蛋白。

4 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。