

蓝色-琼脂糖凝胶 6FF

本产品将蓝色染料偶联到交联及活化的琼脂糖凝胶上，该填料具有很高的化学稳定性。蓝色琼脂糖凝胶与目标蛋白的结合主要是配基提供的电子对作用与疏水作用的综合结果。该亲和色谱填料应用范围很广泛，可适用于白蛋白、干扰素、 $\alpha 2$ 巨球蛋白、凝血因子及各种需要 NAD^+ 和 NADP^+ 的酶的分离纯化。

1 填料特性

特点	基团脱落少，结合特异性强
基质	6%的交联琼脂糖凝胶
配基密度	$\approx 4\text{-}7\mu\text{mol/ml}$
吸附载量	12-18mg BSA /ml
亲和填料的颗粒大小	45-165 μm
最大流速	300cm/h
pH范围	4-12
使用温度	4 $^{\circ}\text{C}$ ~常温

*层析柱50mm*30cm，柱床高度15cm，20 $^{\circ}\text{C}$

2 使用方法

蓝色-琼脂糖凝胶 6FF 对于不同的样品的亲和力不同，吸附载量取决于流速、pH、缓冲液组成和温度等参数。

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。
- (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）。

2.2 样品的制备

样品应完全溶解，并且pH值应与结合缓冲液pH值相同。为了避免堵塞层析柱，我们建议通过 0.45 μm 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。

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配。

(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

洗脱条件因样品而异，洗脱可以通过pH、极性（例如乙二醇）或缓冲液的离子强度的改变来实现。

可以通过在缓冲液中用低浓度的游离辅因子NAD⁺或NADP⁺的竞争性洗脱来洗脱具体结合的酶。特异性结合的生物分子通常在1-20mM的范围内洗脱。

较不特异地结合的生物分子可以用增加的离子强度洗脱。洗脱通常在 2M的NaCl或更低浓度的NaCl或KCl来完成。可以使用阶梯或线性梯度（洗脱血清白蛋白，最常用KCl。）

3 再生

根据样品的性质，蓝色琼脂糖6FF可以通过用至少5倍柱体积的高pH值（0.1M TrisHCl, 0.5M NaCl, pH8.5）和低pH值（0.1M乙酸钠, 0.5M NaCl, pH4.5）的缓冲液交替清洗填料，该循环应重复4-5次，然后在结合缓冲液中重新平衡。

4 保存

4-8℃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。