此说明仅限参考

明胶-琼脂糖凝胶 使用说明

明胶与纤连蛋白特异性结合，纤连蛋白是许多细胞类型表面上发现的高分子量糖蛋白，并存在于包括血浆在内的许多细胞外液中。 明胶琼脂糖凝胶 4B 已被设计用于纯化或去除纤连蛋白。

1 技术指标

产品名称	明胶-琼脂糖凝胶 4FF	明胶-琼脂糖凝胶 4B
基质	高度交联的 4%琼脂糖凝胶	4%琼脂糖凝胶
颗粒大小	45-165μm	45-165μm
配基密度	约 4-6 mg 明胶/ml 填料	约 4-6 mg 明胶/ml 填料
最大流速	150 cm/h	50 cm/h
耐压	0.2 Mpa	0.1 Mpa
pH稳定性	3-10	3-10
化学稳定性	所有常用的水相缓冲液	所有常用的水相缓冲液
保存条件	4-8℃	4-8℃

*检测条件： 层析柱 10mm×200mm *柱床高 5cm，25°C

2 使用

2.1 样品制备

在将样品上样之前，应将样品用 0.45um 过滤器进行过滤或离心。如果样品太粘稠，应用结合缓冲液稀释，以防止堵塞色谱柱。

2.2 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。

2.3 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。所有缓冲液均需要用0.45um的过滤器过滤。

2.4 上样

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。

纤连蛋白在其稳定 pH 和离子强度附近与明胶琼脂糖凝胶 4FF 结合，磷酸盐缓冲液或 Tris-HCl 缓冲液通常用作纯化或除去纤连蛋白的结合缓冲液。

2.5 洗脱

用洗脱缓冲液使用阶梯梯度或线性梯度洗脱。对于洗脱步骤，5个柱体积的洗脱缓冲液通常就足够了。对于线性梯度洗脱，适当增加洗脱步骤。

纤连蛋白可以用不同的方式从明胶-琼脂糖凝胶4FF洗脱出来：

（1）使用含有溴化盐的缓冲液，例如溴化钠或溴化钾，pH低于结合缓冲液。推荐的缓冲液为0.05M乙酸钠，pH 5.0，含有1.0 M溴化钠或溴化钾。

（2）在结合缓冲液中加入8M尿素洗脱吸附的纤连蛋白。

（3）纤连蛋白也可以通过向结合缓冲液中加入精氨酸来洗脱。

3 再生

可以通过用2-3柱床体积的高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明胶-琼脂糖4FF。该循环应重复3次，然后用3-5倍柱床体积的结合缓冲液重新平衡。

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，4-8℃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。

瑞达恒辉所有产品仅用作科学研究，不得用于其他用途！销售产品行为均适用于我司官网所列用户协议条款。