



此说明仅限参考

精氨酸-琼脂糖凝胶4B

精氨酸琼脂糖凝胶4B是通过环氧活化法将L-精氨酸固定在琼脂糖凝胶4B上的。L-精氨酸通过其 α -氨基偶联，留下胍基和 α -羧基在层析过程中与样品物质相互作用。

精氨酸-琼脂糖凝胶4B用于纯化具有对L-精氨酸有生物特异性或电荷依赖性的分子。例如，前激肽释放酶，纤溶酶原激活物，凝血酶原和成熟促进因子等。

1 填料特征

基质	4%的琼脂糖凝胶
配体密度	10-20 $\mu\text{mol/ml}$
介质颗粒大小	45-165 μm
最大流速	75 cm/h
pH范围	2-13
化学稳定性	0.01 M HCl, 0.1 M NaOH
保存温度	4-RT, 4-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存更佳
保存液体	20%乙醇

*检测条件：层析柱 10mm \times 200mm *柱床高 5cm, 25 $^{\circ}\text{C}$

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0.45 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

不同的物质对精氨酸琼脂糖 4B 的结合力不同。吸附载量将取决于样品浓度、流速、pH、缓冲液组成和温度等参数。为了获得吸附载量的最佳纯化，必须首先在不同 pH 和流速的范围内确定。样品 pH 应与结合缓冲液相同。样品上样完毕后，用结合缓冲液平衡柱子，直到基线稳定（流出液电导和 pH 不变）。

注意：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。

2.5 洗脱

- (1) 可以通过竞争性来洗脱，例如缓冲液中的精氨酸将洗脱特异性结合的物质。
- (2) 较不特异结合的生物分子可以用增加的离子强度的方式洗脱。
- (3) 另一种替代洗脱方法为：使用作为变性剂的尿素或盐酸胍来进行洗脱。

3 再生

根据样品的性质，精氨酸琼脂糖 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。

通过在缓冲液中加入 8M 尿素或 6M 盐酸胍可以去除强吸附的蛋白质。

强吸附的蛋白质也可以通过用 2-3 床体积的 0.1M NaOH 去除，然后用大量纯水洗掉碱。

4 保存

2-8°C 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°C 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。