此说明仅限参考

羧基-琼脂糖凝胶4B

羧基-琼脂糖凝胶4B是通过环氧活化法将6-氨基己酸共价连接到琼脂糖凝胶4B上的，在10个碳原子间臂末端具有自由羧基，可以偶联含有伯氨基的配体。长长的间隔臂使它特别适合固定的小分子。

基质	4%的琼脂糖凝胶
配体	羧基
配体密度	10 μ moles carboxyl groups/ml
介质颗粒大小	45-165μm
最大流速	75 cm/h
pH范围	3-13
保存温度	4-8℃
保存液体	20%乙醇

*检测条件： 层析柱 10mm×200mm *柱床高 5cm，25℃

1 使用方法

2.1 缓冲液制备

用于缓冲液制备的水和化学品应具有高纯度。使用前通过0.45μm过滤器过滤缓冲液。

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 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。

2.4 上样

不同的物质对羧基琼脂糖 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）。

2.5 洗脱

洗脱条件取决于使用哪种配体，具体参考文献和教科书。

（1）pH变化：pH的变化改变了结合位点处带电基团的电离程度。样品和填料的解吸一般受pH值下降的影响。

（2）离子强度：可使用线性梯度或阶梯梯度增加离子强度的方法进行洗脱。最经常使用的是NaCl，酶通常以1M或更低浓度的NaCl洗脱。

3 再生

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 (0.1M 乙酸钠, 0.5M NaCl, pH4.5）缓冲液洗涤填料来再生，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。

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。