此说明仅限参考

苯基-琼脂糖凝胶 CL-4B

苯基-琼脂糖凝胶 CL-4B 是将苯基键合在琼脂糖凝胶 CL-4B 上形成的一种可利用疏水相互作用来实现目标产品纯化分离的疏水类介质。

1 理化指标

项 目	指 标
配基	R-OCH_2-CH(OH)-CH_2-O-C_6H_5
基质	4% 交联琼脂糖
粒径	45~165 μm
配基密度	35 μmol/mL
最高流速(25℃)	100 cm/h*
耐压	0.15 MPa
工作温度	4~40℃
pH 适用范围	3~12（短时间）；4~12（长时间）
化学稳定性	以下溶液中稳定：

*柱子：内径 10mm、柱长 20cm。柱床高 5cm，25℃，流动相为水。

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）。

3 应用

本产品具有高化学稳定性、高流速、高载量、好的机械性能、可在位清洗、多次重复使用等特点，非特异性吸附低，回收率高，适用于工业规模生产，适用于在 pH 工作范围内可形成正离子的生物大分子的分离纯化，广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的离子交换制备。

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的 Buffer 的 pH 值和电导值）。

3.3 上样

上样量的多少和多种因素相关，样品的性质和缓冲液的不同，上样量也不同。高配基密度不一定对应高吸附蛋白量，但是高配基密度可以促进蛋白质的多点附着，否则蛋白质可能难以吸附，中等的配基密度可以通过调节缓冲液的浓度来选择性结合目标蛋白。

（1）样品应溶解在平衡缓冲液中，可以通过透析或脱盐的方法将样品的缓冲液进行置换。样品的粘度不应超过缓冲液的粘度。样品一定要离心或过滤后上样；

（2）用于样品结合和洗脱的流速取决于所需的分辨率，通常流速越低，分辨率越好。

（3）蛋白质与疏水性填料的结合受以下影响：

- 配基的结构（例如，碳链或芳族配体）
- 配基密度
- 缓冲液的离子强度
- 盐析效应：引起盐析的盐（例如硫酸铵）也促进与疏水配基的结合。将样品溶解在高离子强度的溶液中，典型的起始缓冲液是 1.7M 的（NH_4）$_2SO_4$，刚好低于用于盐析蛋白质的浓度。
- 气温：疏水相互作用在较低温度下较弱。如果色谱在冷室中进行，则必须考虑这一点。

3.4 洗脱

结合的蛋白可以通过降低疏水相互作用的强度而被洗脱，这可以通过以下方式完成：

（1）用盐梯度递减（线性或阶梯）来进行洗脱；

（2）用添加到缓冲液中的极性降低的有机溶剂（例如乙二醇）洗脱；

（3）用加入到缓冲液中的去污剂洗脱。

常用的缓冲液如下：

缓冲液 A：50mM 磷酸盐缓冲液，pH 7.0 + 1.7M（NH_4）$_2SO_4$

缓冲液 B：50mM 磷酸盐缓冲液，pH 7.0

← Increasing salting-out effect

Anions: PO_4^{3-} SO_4^{2-} CH_3COO^- Cl^- Br^- NO_3^- ClO_4^- I^- SCN^-

Cations: NH_4^+ Rb^+ K^+ Na^+ Cs^+ Li^+ Mg^{2+} Ba^{2+}

Increasing chaotropic effect →

3.5 再生

用低离子强度缓冲液洗脱，监测再生期间的紫外吸光度，以确定结合物质何时完全从柱中洗出。用大量蒸馏水洗柱，用至少 5 倍柱体积的起始缓冲液重新平衡。

在一些应用中，诸如变性蛋白质或脂质的物质在再生过程中洗脱不掉。这些可以通过在位清洗程序除去。

3.6 在位清洗

（1）用 0.1M NaOH 溶液洗涤柱子，然后立即用大量蒸馏水清洗柱子，来除去沉淀的蛋白质。

（2）通过用 70%乙醇或 30%异丙醇来除去强的疏水性结合的蛋白质、脂蛋白和脂质。当使用高浓度有机溶剂时，需要注意避免气泡形成，最后用蒸馏水洗涤柱子并重新平衡。

4 保存

未使用的填料，4-25℃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。

产品订购相关信息

产品货号	产品名称	纯度/规格	包装
HA-0630-25ml	苯基-琼脂糖凝胶 CL-4B	国产	25ml
HA-0630-100ml	苯基-琼脂糖凝胶 CL-4B	国产	100ml
HA-0630-500ml	苯基-琼脂糖凝胶 CL-4B	国产	500ml

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。