

琼脂糖凝胶 6FF

琼脂糖凝胶 6FF 是用 6%浓度琼脂糖制备成的球型颗粒，作为凝胶层析介质使用。

1 理化指标

项 目	指 标
基质	6%琼脂糖凝胶
排阻极限	4×10 ⁶ (球蛋白)
形状	球型
粒径	45~165 μm
最大流速	300cm/h*
耐压	0.3 MPa
pH 适用范围	2-12 (长时间), 2-14 (短时间)
化学稳定性	可耐 8mol/L 尿素、6mol/L 盐酸胍

*检测条件：层析柱 10mm×300mm *柱床高 5cm, 25℃, 流动相为 0.1mol/LNaCl。

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)。保质期: 5 年。

3 应用

本产品为传统的琼脂糖介质, 非特异性吸附低, 回收率高, 可多次重复使用等特点, 用于分子量差异大、对分辨率要求不高的样品的凝胶层析纯化。

优点: 高化学和物理稳定性、快速流动特性、维护方便、可扩大规模。

3.1 装柱

- (1) 让所有的材料和试剂达到室温。配制缓冲液。
- (2) 根据柱子大小取所需量的凝胶, 用去离子水清洗掉 20%乙醇, 用缓冲液 (按凝胶: 缓冲液=3: 1 的比例) 配成匀浆。
- (3) 将柱内及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。
- (4) 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。

(5) 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

让缓冲液以一定流速流过柱子，到流出液电导和 pH 不变。

建议使用离子强度为 0.15 或更大的缓冲液，以避免溶质分子和基质之间的任何不需要的离子相互作用。

对于各 Sepharose 凝胶的推荐流速，请参考推荐流速越低，分离度越高。

3.3 上样

(1) 样品用平衡液配制，样品一定要离心或过滤后上样。

(2) 推荐的样品体积为总床体积的 2-5%。

3.4 洗脱

用缓冲液洗脱，洗脱中保持流速、缓冲液组成不变。

3.5 再生

一般用缓冲液洗到平衡，可再次使用。

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。这些可以使用下述步骤清除。

出现下面这些情况，是必须需要清洗再生的：

- (1) 背压增加；
- (2) 色谱柱顶部的颜色变化；
- (3) 分辨率降低；
- (4) 转换接头和凝胶表面之间出现空隙。

如果观察到增加的背压，在开始柱清洁程序之前先检查管路中的各个过滤阀、过滤膜是否被污染；

通过用 0.1M NaOH 以推荐线性流速洗涤柱子，除去沉淀的蛋白质，非特异性结合的蛋白质和脂蛋白。

3.6 注意

在装柱、使用和保存柱子的时候，始终要避免柱子流干气泡进入。

4 保存

使用完的填料，用纯水将盐分彻底冲洗，最后保存在 20%乙醇中，4℃保存。

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。
- 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 0.15 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