



Bestdex G-25 产品说明书

1、产品简介

Bestdex G-25 系列介质是以葡聚糖为基质的凝胶过滤层析(gel filtration chromatography)介质,其工作原理主要是利用具有网状结构的葡聚糖凝胶的分子筛作用,根据被分离物质的分子大小不同来进行分离。

按凝胶介质粒径不同, Bestdex G-25 系列介质又可分为四类,分别为: Bestdex G-25 粗, Bestdex G-25 中等, Bestdex G-25 细和 Bestdex G-25 超细。详细技术参数见下表:

表 1.1 Bestdex G-25 系列介质相关参数

	Bestdex G-25 粗	Bestdex G-25 中等	Bestdex G-25 细	Bestdex G-25 超细
颗粒大小(干)	100-300 μ m	50-150 μ m	20-80 μ m	20-50 μ m
分离范围(葡聚糖)	1×10^2 - 5×10^3	1×10^2 - 5×10^3	1×10^2 - 5×10^3	1×10^2 - 5×10^3
分离范围(球蛋白)	1×10^3 - 5×10^3	1×10^3 - 5×10^3	1×10^3 - 5×10^3	1×10^3 - 5×10^3
得水值(ml湿胶/g干粉)	2.3-2.7	2.3-2.7	2.3-2.7	2.3-2.7
最大流速(cm/h)	-	150	60	20

Bestdex G-25 系列层析介质常用于蛋白溶液的脱盐、缓冲液交换和不同分子量蛋白的分离等,根据不同的用途其上样量也不可一概而论,样品进行缓冲液置换-脱盐时最高可上样 30%柱体积。

2、装柱材料及溶液

2.1 层析柱: BXK16/20 或 BXK26/20

2.2 装柱仪器: 低压层析系统

2.3 装柱溶液: 0.1M NaCl 溶液或水

注: 所使用的材料及溶液应与色谱操作的温度一致;层析柱筛网孔径为 23 μ m 或 10 μ m。

2.4 胶悬液的准备:

计算所需介质的量(柱床体积为 1L 时所需 100%沉降胶约为 1.15kg)。(如装填 16/20 柱,柱床高度 10cm,所需介质的量为 $\pi \times (1.6/2)^2 \times 10 \times 1.15 = 23.11$ g)称取 23.11g 介质于干净烧杯中,加入一定量(如 12ml)的装柱溶液,搅拌使其形成均匀的胶悬液。

注: 沉降介质:保存于 20%乙醇中的介质,静置放置一天以上,倾去 20%乙醇后的介质为 100%沉降介质。

2.5 装柱:

2.5.1 检查层析柱, 确保各部件完整、干净。安装下柱头,拧紧 O 型圈后,将层析柱垂直固定在铁架台上,用水平仪检查并调整,使层析柱保持水平。

2.5.2 层析柱中加入适量的装柱溶液, 以除去柱子中的空气。关闭柱子出口,柱内保留

1-2cm 高度的装柱溶液。

2.5.3 用玻璃棒紧靠柱内壁引流，将介质悬液连续倒入层析柱中，以减少气泡的产生。介质自然沉降至体积不再变化，此时介质和溶液出现分层，上层溶液完全澄清。

2.5.4 连接上柱头至低压层析系统，开泵以一定流速排出管路中残留的空气，暂停系统，将上柱头安装至层析柱上，柱头下端距离胶面约 1cm，开泵以 30cm/h 流速压柱至柱床体积不再变化。暂停系统，略拧松 O 型圈，向下转动调节杆使下端距离介面 0.5-1cm。

2.5.5 拧紧 O 型圈，开泵以最大流速 70% 压柱 3CV 以上，至柱床体积不再变化，在界面处做好标记。

2.5.6 关闭泵，关闭柱下端出口，使层析柱上端和泵断开，向下转动调节杆，至记号处以下 0-0.5cm 停止，关闭上接口。装柱完成。

3、实验过程--缓冲液交换

3.1 缓冲液：目标缓冲液

3.2 柱平衡：用推荐缓冲液平衡脱盐柱 2-3CV。

3.3 样品：

最大样品量可达 30% 柱体积。为尽可能增加层析柱的使用寿命，所用的样品应使用 0.45 μ m 或 0.22 μ m 的滤膜过滤。

3.4 洗脱：

样品洗脱过程中使用的流速不要超过推荐的最大流速。凝胶过滤是一种非吸附性色谱技术，所有的样品物质都应在一个柱体积之内洗脱出来。完成一个操作后，如仍用同一种缓冲液，色谱柱不需要再平衡。

4、清洗及再生

在位清洗：为除去变性蛋白、脂蛋白或脂质，有时需要对脱盐柱进行在位清洗。常用的清洗液为 0.2M NaOH 或非离子型去垢剂，清洗 2-3 倍柱体积。

5、保存条件

20% 乙醇，室温保存。