



葡聚糖凝胶 G 系列使用说明

1、化学和物理性质

葡聚糖凝胶是一种珠状的凝胶，含有大量的羟基，很容易在水中和电解质溶液中溶胀。亲水基质使其非特异性吸附最小化，并在生物分子分离期间得到较高的回收率。G 型的葡聚糖凝胶有各种不同的交联度，因此它们的溶胀度和分级分离范围也有所不同。葡聚糖凝胶的溶胀度基本上不因盐和洗涤剂的存在而受影响。

2、产品说明

产品名称	球蛋白分离范围	应用	最大耐压 MPa
葡聚糖凝胶 G-10	<700	缓冲液交换、脱盐，分离小分子，去除小分子	0.15
葡聚糖凝胶 G-15	<1500	缓冲液交换、脱盐，分离小分子，去除小分子	0.15
葡聚糖凝胶 G-25	1000-5000	工业上脱盐及交换缓冲液	0.15
葡聚糖凝胶 G-50	1000-30000	多肽分离、脱盐、清洗生物提取液、分子量测定	0.10
葡聚糖凝胶 G-75	2000-70000	蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定	0.016
葡聚糖凝胶 G-100	2000-120000	蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定	0.0096
葡聚糖凝胶 G-150	5000-300000	蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定	0.0096
葡聚糖凝胶 G-200	5000-600000	蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定	0.0096

3、使用方法

Sephadex 系列产品以干粉形式存在，使用前必须溶胀，在膨胀期间应避免过度搅拌，因为它可能破坏填料，不要使用磁力搅拌器。

3.1 填料的准备

(1) 将填料在过量去离子水或缓冲液中，室温条件下膨胀 24 小时，或用热水膨胀 1 小时（不要水浴！）洗脱缓冲液不应含有高粘度的试剂。溶胀过程中，如果上层有漂浮物，请去除。

(2) 将溶胀好的填料，所有的缓冲液等材料平衡至实验操作温度，对所有的缓冲液进行脱气处理。

3.2 装柱

(1) 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

(2) 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。

(3) 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，联结好柱子顶端柱头。

(4) 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）。



3.3 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）。

3.4 上样

样品一定要离心或过滤后（0.45um 滤膜）上样。

凝胶过滤的上样量一般为不大于 5% 的柱床体积，我们建议初次上样控制在 1-2% 的柱床体积，视分离情况可以调整；脱盐时上样量可以达到 20% 的柱床体积，柱高的选择也与分离要求相关，柱子越高，分离效果相应越好，但是，柱高过高的凝胶柱会引起较大的反压，也应当尽可能避免。难分离物质要有一定柱高和流速控制，脱盐时高径比为 5: 1 即可。

3.5 洗脱方法

可以用无盐水，也可以采用上柱时的缓冲液洗脱。

3.6 在位清洗（CIP）

凝胶使用十次后作一次 CIP，目的是去除柱床内沉淀的及顽固残留的蛋白。方法是用 0.1 M 氢氧化钠洗 2 个柱体积，再以至少 10 个柱体积平衡缓冲液再生。

4 保存

未处理的填料，室温密闭保存。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。

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。