



赖氨酸-琼脂糖凝胶4B

赖氨酸琼脂糖凝胶4B用于纯化对L-赖氨酸具有生物特异性或电荷依赖性的生物分子，已被用于纤溶酶原和纤溶酶原激活物的分离，核糖体RNA (rRNA) 的分离和双链DNA的纯化。

1 填料性质

基质	4%的琼脂糖凝胶
配体密度	3-7 $\mu\text{mol} / \text{ml}$
吸附载量	0.4-0.6 mg人纤维蛋白溶酶原/ ml填料
介质颗粒大小	45-165 μm
最大流速	75 cm/h
pH范围	2-11
化学稳定性	0.01 M HCl, 0.1 M NaOH

*检测条件：层析柱 16mm×200mm *柱床高 5cm, 25℃

2 使用方法

2.1 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）。

2.2 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0.45 μm 过滤器进行离心和过滤，以去除细胞碎片或其他颗粒物。

2.3 平衡色谱柱

用5-10个柱体积的结合缓冲液平衡该柱，直到流出液电导和pH不变。常用的结合缓冲液是20-50 mM 缓冲液，pH7.5。

2.4 上样



(1) 样品用平衡液配制，样品一定要离心或过滤后上样。盐浓度太大的样品需要处理后再上样。

(2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上，用平衡液洗去杂质和没有结合的蛋白，再选择一种洗脱液洗下目标产品。

2.5 洗脱

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。常用的洗脱缓冲液是，结合缓冲液加入2M NaCl。

建议在每使用5次之后，用含有50mM磷酸盐缓冲液，pH7.5，0.2 M的 ϵ -氨基己酸，1M NaCl洗涤填料，清洗纤溶酶原。 ϵ -氨基己酸可以通过脱盐柱除去。

3 再生

根据样品的性质，赖氨酸琼脂糖4B可以通过用2-3床体积的高pH(0.1M Tris-HCl, 0.5M NaCl, pH8.5)缓冲液和低pH值(0.1M乙酸钠, 0.5M NaCl, pH4.5)缓冲液交替洗涤填料来再生。该循环应重复3次，随后用至少5倍柱体积的结合缓冲液重新平衡。

纤溶酶原纯化后，培养基应通过用几个床体积的含有1M NaCl和0.2M的 ϵ -氨基己酸的50mM磷酸缓冲液(pH7.5)洗涤来再生。

核酸纯化后，用至少5床体积的含有2M NaCl的50mM磷酸缓冲液(pH7.5)清洗填料。

4 保存

2-8℃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℃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。