

Gelatin 亲和层析介质(4FF)

Gelatin Beads 4FF

货号	规格
BDTL0076-25	25ml
BDTL0076-200	200ml

1. 产品介绍

Gelatin Beads 4FF 是用于纯化或去除纤连蛋白的一类介质。纤连蛋白是一种大分子糖蛋白，广泛存在于动物组织、组织液和血浆中。Gelatin Beads 4FF 采用高交联的 4% 琼脂糖介质，可耐受较高的流速及化学稳定性，适合大规模纯化。具体性能见表 1。

表 1. Gelatin 亲和层析介质(4FF)产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	明胶
配体密度	>4mg/ml 介质
载量 (/ml 介质)	1mg 人血浆纤连蛋白
粒径 (μm)	45-165
最大流速	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	3-10
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8 $^{\circ}\text{C}$

2. 纯化流程

2.1 Buffer 的准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

- **平衡/洗杂 Buffer:** 50mM Tris-HCl, 0.15M NaCl, 1mM EDTA, pH7.4
- **洗脱 Buffer:** 50mM sodium acetate, 1.0M NaBr 或 KBr, pH5.0
- **洗脱 Buffer** 还可选择: **平衡 Buffer** 中加入 8M 尿素
- **平衡/洗杂 Buffer** 可选择生理条件下的 pH 和离子浓度, 磷酸盐或 Tris-HCl 缓冲液都可以。

2.2 样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 可以用平衡/洗杂液对血清样品、

腹水或细胞培养液稀释，或者样品用平衡/洗杂液透析。

样品在上样前建议离心或用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

注：纤连蛋白可以吸附到玻璃上，所用容器等可选择硅化玻璃，减少样品损失。

2.3 Gelatin Beads 4FF 装填

Gelatin Beads 4FF 被广泛应用于工业纯化，因此，涉及到各种中压色谱层析柱的装填，下面介绍使用 **Gelatin Beads 4FF** 填装层析柱的方法。

层析柱的装填（使用储液器装填）

- 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1-2cm 的去离子水。
- 将树脂悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 打开层析柱底部出口，开启泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。（注意：在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%）当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。
- 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 如果使用储液器，去除储液器，将分配器置于层析柱中。
- 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。
- 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中，开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

2.4 样品纯化

Gelatin Beads 4FF 装填好后，可以用各种常规的中低压色谱系统。

- 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中，打开下出口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。
- 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液。
- 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。
- 利用泵或样品环上样。注：样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。
- 用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积）。

2 / 3

➤ 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱，收集洗脱液，即目的蛋白组分。

2.5 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 层析介质再生和清洗

本产品可以选择使用 2-3 倍柱体积的 0.1M Tris-HCl, 0.5M NaCl, pH8.5 和 0.1M 醋酸钠, 0.5M NaCl, pH4.5 清洗，重复 3 次，在用 3-5 倍柱体积的结合液平衡。

去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法

用 2-3 倍柱体积的 0.1% Triton™ X-100 37 度清洗，然后立即用 5 倍柱体积的结合液平衡。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Gelatin 亲和层析介质(4FF) Gelatin Beads 4FF	BDTL0076-25	25ml
	BDTL0076-200	200ml