

## 琼脂糖凝胶 6FF

琼脂糖凝胶 6FF 是在琼脂糖凝胶 6B 的基础上经过两次交联形成的高交联基质，微球的化学稳定性及物理性能显著增强，刚性增加，流速更快，使产品处理时间大大缩短。可用于生物大分子的凝胶层析。

### 1 外观

本品为白色球状凝胶,无嗅、无味、无肉眼可见杂质。

### 2 理化指标

| 项 目     | 指 标   |
|---------|---|
| 基 质     | 6% 交联琼脂糖  |
| 排阻极限    | 10000~4×10 <sup>6</sup> (球蛋白)   |
| 形状      | 球形  |
| 粒径      | 45~165 μm   |
| 最高流速    | 300 cm/h*   |
| 耐压      | 0.20 MPa  |
| pH 适用范围 | 2~14 (短时间, 在位清洗), 2~12(长时间)   |
| 化学稳定性   | 以下溶液中 40℃下稳定:<br>2mol/L NaOH; 70%EtOH; 30%异丙醇; 30%乙腈;<br>1%SDS; 6mol/L 盐酸胍; 8mol/L 尿素 |

\*检测条件: 层析柱 10mm×300mm \*柱床高 15cm,25℃, 流动相为 0.1mol/LNaCl

### 3 包装

产品以聚胺酯瓶密封包装, 外贴标签, 注明“品名、体积、颗粒大小” 等内容。

### 4. 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)。

### 5 注意事项

本品应避免与氧化剂接触, 避免长时间暴露在空气中。

## 6 运输

运输中应避免日晒、雨淋、重压，严禁与有毒、有害物品混运。

## 7 保质期

5 年。

## 8 应用

本产品具有很高的化学稳定性、高流速、较好的机械性能、可多次重复使用等特点，非特异性吸附低，回收率高，可用有机溶剂及 1~2mol/L 的 NaOH 在位清洗，适用于工业规模生产，广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的凝胶色谱纯化。

下面简要介绍介质的使用过程。

### 8.1 装柱

凝胶过滤介质的使用对装柱的要求较高，为了保证分离效果，一般通过柱子上加一个装柱器来使分离柱装满凝胶，或采用带有轴向加压装置的柱子。凝胶柱床一般高于 60cm。装柱效果可用染料或丙酮-水溶液进行检验。

以下过程为通用介质装填过程。若为带有轴向加压装置的柱子，可在柱床稳定后将柱床压紧，接好管路。

(1) 让所有的材料和试剂达到室温。配制缓冲液。凝胶层析上样、平衡和洗脱只用一种低盐浓度的缓冲液。

(2) 选择一根一定直径的柱子，长约 30~60cm,根据柱子大小取所需量的凝胶（约为柱床体积的 1.15 倍），清洗掉 20%乙醇，抽干，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（液面略高于滤膜），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。用缓冲液平衡柱子，到柱床稳定。

(6) 最好用一个装柱器辅助装柱。装完后柱床上端轻轻刮平，上好柱头。

## 8.2 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。

## 8.3 上样

(1) 样品用缓冲液配制，浑浊的样品要离心和过滤后上样。含盐量过大、浓度过小的样品要先做处理，再上样。

(2) 介质对样品组分的分离是按组分分子量大小进行的，分子量大的先流出来。

(3) 上样体积约为柱体积的 1~2%，越小分离越好。

## 8.4 洗脱

用缓冲液洗脱，洗脱中保持流速、缓冲液组成不变。

## 8.5 再生

一般用缓冲液洗到平衡，可再次使用。

## 8.6 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。

若有失活蛋白质或脂类物质在再生时洗不掉，可用在位清洗（CIP）除去。

## 8.7 在位清洗

(1) 对于以离子键结合上去的蛋白，可以用 2M NaCl 去除。

(2) 对沉淀蛋白、对以疏水性结合的蛋白或脂类，可用 1M NaOH 去除。

(3) 对强疏水性结合的蛋白、脂类等，用 4~10 倍柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗，但要注意有机溶剂的浓度以梯度的方式逐渐增加，否则容易产生气泡。

清洗完毕后，用至少 3 倍缓冲液平衡柱子。

## 8.8 注意

在装柱、使用和保存柱子的时候，要避免柱子流干气泡进入。

## 8.9 去热源

用 0.5M 的氢氧化钠清洗柱子 5~6 小时或用 0.1M 的氢氧化钠 24 小时。或用以下方法步骤去除：

(1) 2 倍柱体积的 70%乙醇；

- (2) 2 倍柱体积 50mM Tris-Hcl pH7.5;
- (3) 1 倍柱体积 4M 尿素;
- (4) 3 倍柱体积的 Tris 缓冲液+0.1M Nacl;

以上缓冲液都在无热源的双蒸水中配制。

### **8.10 消毒**

用 0.5~1M NaOH 室温下洗 8~10 倍柱体积，初始缓冲液平衡柱子。