



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyysw@sina.com

## 明胶-琼脂糖凝胶 4B

货号: S14058

储存条件: 2-8℃

明胶与纤连蛋白特异性结合, 纤连蛋白是许多细胞类型表面上发现的高分子量糖蛋白, 并存在于包括血浆在内的许多细胞外液中。明胶琼脂糖凝胶 4B 已被设计用于纯化或去除纤连蛋白。

### 技术指标

基质	4%琼脂糖凝胶
颗粒大小	45-165 $\mu$ m
配基密度	约 4-6 mg 明胶/ml 填料
最大流速	150 cm/h
耐压	0.2 Mpa
pH 稳定性	3-10
化学稳定性	所有常用的水相缓冲液

\*检测条件: 层析柱 16mm×200mm \*柱床高 5cm, 25℃

## 2 使用

### 2.1 样品制备

在将样品上样之前, 应将样品用 0.45 $\mu$ m 过滤器进行过滤或离心。如果样品太粘稠, 应用结合缓冲液稀释, 以防止堵塞色谱柱。

### 2.2 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)。

## 2.3 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。所有缓冲液均需要用 0.45um 的过样品用平衡液配制, 样品一定要离心或过滤后滤器过滤

## 2.4 上样。

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配。

纤连蛋白在其稳定 pH 和离子强度附近与明胶琼脂糖凝胶 4FF 结合, 磷酸盐或 Tris-HCl 缓冲液通常用作纯化或除去纤连蛋白的结合缓冲液。

## 2.5 洗脱

用洗脱缓冲液使用阶梯梯度或线性梯度洗脱。对于洗脱步骤, 5 个柱体积的洗脱缓冲液通常就足够了。

对于线性梯度洗脱, 适当增加洗脱步骤。

纤连蛋白可以用不同的方式从明胶-琼脂糖凝胶 4B 洗脱出来:

(1) 使用含有溴化盐的缓冲液, 例如溴化钠或溴化钾, pH 低于结合缓冲液。推荐的缓冲液为 0.05M

乙酸钠, pH 5.0, 含有 1.0 M 溴化钠或溴化钾。

(2) 在结合缓冲液中加入 8M 尿素洗脱吸附的纤连蛋白。

(3) 纤连蛋白也可以通过向结合缓冲液中加入精氨酸来洗脱。

## 3 再生

可以通过用 2-3 柱床体积的高 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明胶-琼脂糖 4B。该循环应重复 3 次, 然后用 3-5 倍柱床体积的结合缓冲液重新平衡。

## 4 保存

4-8℃ 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



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyysw@sina.com

---

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。



源叶生物