



此说明仅限参考

## 苯甲脒琼脂糖凝胶 4FF 预装重力柱

苯甲脒类物质是丝氨酸蛋白酶的广谱抑制剂，所以将这类物质偶联到琼脂糖凝胶4FF上，可以从各种来源的样品中一步纯化胰蛋白酶、凝血酶、尿激酶、前激肽释放酶等丝氨酸蛋白酶。

### 1 亲和填料特征

|         |                         |
|---------|-------------------------|
| 基质      | 4%的高度交联琼脂糖凝胶            |
| 配基密度    | 6-10 $\mu\text{mol/ml}$ |
| 填料的颗粒大小 | 45-165 $\mu\text{m}$    |
| pH范围    | 2-8                     |
| 保存温度    | +4~8 $^{\circ}\text{C}$ |
| 保存液体    | 20%乙醇                   |

### 2 使用方法

苯甲脒-琼脂糖凝胶 4FF 对于不同的样品的亲和力不同，吸附载量取决于流速、pH、缓冲液组成和温度等参数。

#### 2.1 样品的制备

样品应完全溶解，并且pH值应与结合缓冲液pH值相同。为了避免堵塞层析柱，我们建议通过0.45 $\mu\text{m}$ 过滤器进行离心和过滤，以去除细胞碎片或其他颗粒物质。

#### 2.2 层析柱的准备

- (1) 让所有的材料和试剂达到温度一致。
- (2) 层析柱保存液是20%乙醇，实验前，需用去离子水清洗掉20%乙醇，水洗大概5个柱体积。

#### 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。

参考结合缓冲液：0.05M Tris-HCl, 0.5M NaCl, pH 7.4。

#### 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配。
- (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

洗脱条件因样品而异，具体参考文献。

参考洗脱缓冲液：0.05M甘氨酸，pH 3.0或10mM HCl，0.5M NaCl，pH2.0，可以往收集到的洗脱液中加入pH9 1M Tris-HCl，这将防止洗脱蛋白质由于pH低而变性。

## 3 再生

根据样品的性质，可以通过用2-3床体积的高pH (0.1M Tris-HCl + 0.5M NaCl, pH8.5) 和低pH值 (0.1M 乙酸钠+ 0.5M NaCl, pH 4.5) 缓冲液交替洗涤填料，来再生苯甲脒-琼脂糖凝胶 6B，该循环应重复3次，然后用5-10倍柱床体积的结合缓冲液重新平衡。

## 4 保存

4-8°C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°C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。

瑞达恒辉所有产品仅用作科学研究，不得用于其他用途！销售产品行为均适用于我司官网所列用户协议条款。