

SP-琼脂糖凝胶 FF

品名: SP-琼脂糖凝胶 FF(SP SePharose Fast Flow, SP SePharose FF)

目录号: BN26407 (中压预装柱)、BN26408 (重力预装柱)

贮存: 保存液 (20%乙醇, 0.2M 乙酸钠), 2-25℃

运输: 2-25℃, 常压、避光

保质期: 5年

相关介绍:

SP-琼脂糖凝胶 FF 是一种将丙磺酸甲基键合在琼脂糖微球上形成的带有强酸阳离子基团的层析分离介质。该产品保留了琼脂糖极好的亲水性及大网架结构, 与生物活性大分子有很好的相容性, 具有离子交换容量高, 非特异性吸附少, 流速快等特点, 广泛用于蛋白质、核酸、多肽及多糖等的生物大分子实验室规模制备和生物制药、生物工程的工业化制备。

技术指标:

外观	乳白色半透明凝胶状微球
基质	6%交联琼脂糖
离子交换类型	强酸阳离子基团
配体	-SO ₃ ⁻
配体密度	100-180μmol/ml
蛋白质载量	约 50 mg 溶菌酶/ml
最大流速	800 cm/h
推荐流速	100 cm/h
粒径范围	60-180μm
耐反压	0.3 MPa
工作温度	4-40℃
耐热	pH7 水中, 120℃灭菌 30min
pH 稳定性	4-13 (长时间); 3-14 (短时间)
化学稳定性	在以下溶液中稳定: 常用的水相缓冲液; 1mol/L 氢氧化钠; 8mol/L 尿素; 6mol/L 盐酸胍; 70%乙醇。

使用方法:

1. 装柱

1.1 根据分离目标性质配制初始缓冲液 (平衡液) 和洗脱缓冲液。

1.2 将凝胶抽干, 并用蒸馏水洗涤 2 次去除保存的乙醇, 用初始缓冲液 (按凝胶: 缓冲液=3:1 的比例) 配成匀浆并脱气。

1.3 将层析柱垂直固定，底端用水或缓冲液润湿并保持一段液位。

1.4 用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内，使凝胶在柱内自由沉降。

1.5 连结好柱子顶端活动柱头，打开蠕动泵，让缓冲液用使用时操作流速流过 5 柱体积，再使用 1.5 倍的操作流速流过 5 柱体积，调节适配柱头，使其尽量贴近胶面，最后用 2-3 倍柱体积的缓冲液平衡柱子。

注意：(1) 所有操作过程不能引入气泡，保证装胶的均匀度。(2) 如填料层有气泡，需要重新填装。(3) 如无条件做 1.2，填料层有气泡，可进行 2 次装柱，去除保存的乙醇和气泡。(4) 乙醇等试剂配制的溶液需要脱气。

2. 平衡

将平衡缓冲液以操作流速平衡层析柱，观察检测器的变化，直到电导、pH 等参数不变。

3. 上样

切换转换阀进行上样，上样量根据样品的性质和层析介质的量进行选择，也可进行线性实验找到最佳上样量；样品的预处理：除盐，置换缓冲液，澄清过滤（0.45、0.22 μ m）等。

4. 冲洗

用 2-3 个柱体积的平衡缓冲液冲洗上样后的层析柱，观察检测器的变化，直到电导、pH 等参数不变，此时未交换的组分被清洗出去。

5. 洗脱

离子交换柱的洗脱可用恒定洗脱、梯度洗脱或者阶跃洗脱，一般推荐增大盐浓度的梯度洗脱进行。

6. 再生

用高盐浓度的缓冲液（含 1-2mol/L NaCl）按操作流速冲洗 3-5 个柱体积，接着用平衡液洗到平衡 3-5 个柱体积。

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。

7. 在位清洗(CIP)

对于强结合蛋白质或脂类物质，可采用以下流程进行在位清洗：1mol/L NaOH 洗 2 个柱体积，8mol/L 尿素洗 2 个柱体积，30%异丙醇洗 2 个柱体积，平衡缓冲液洗 2 个柱体积。

在位清洗可有效去除介质上的杂质，反向效果更佳。如需要去除内毒素热原，可以在 50cm/h 速度下，1mol/L NaOH 清洗 1-2h。