

胰蛋白酶-琼脂糖凝胶 4B

本公司生产的胰蛋白酶-琼脂糖凝胶4B是把高纯度的胰蛋白酶固定到活化好的琼脂糖凝胶上，它可以用于酶切，同时也可以纯化一些能和它结合的物质，如丝氨酸蛋白酶抑制剂等。

1 填料特性

特点	基团脱落少，结合特异性强
配基	胰蛋白酶
配基密度	5-10mg/ml
亲和填料的颗粒大小	45-165 μ m
最大流速	150cm/h
pH范围	1.5-10
使用温度	4℃~常温
保存温度	+4~8℃
保存液体	20%乙醇

2 使用

2.1 样品制备

在将样品上样之前，应将样品用0.45 μ 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。结合缓冲液通常为20-50mM，pH7.4-8.0含0.2-0.5M NaCl的缓冲液，最常用的为Tris-HCl缓冲液

2.5 洗脱

可以用浓度为0.2-2M的pH1.5-5左右的酸性缓冲液进行阶梯或者线性洗脱，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。

3 再生

先用0.1M Tris-HCl pH7.0缓冲液洗3个柱床体积，然后用0.1M NaOH含2M NaCl流洗3个床体积，最后用3M NaCl洗3个床体积，最后用水将电导洗至低于0.1即可。如果再生的效果还不好，也可以用0.2-0.5M pH1.5的缓冲液冲洗3-5个柱床体积，然后再用水清洗，保存在20%乙醇中即可。长期不用最好加抑菌剂如0.05%叠氮钠，酸洗柱子的时间不能太长，否则会缩短填料的寿命。

4 保存条件

该亲和填料保存条件为20%乙醇，+4~8℃。

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。