



## Sephadex G-100 /葡聚糖凝胶 G-100

货号: 17006001

存储条件: 常温, 有效期 5 年

### 产品说明:

#### 产品名称分离范围应用

葡聚糖凝胶 G-10 <700 缓冲液交换、脱盐, 分离小分子, 去除小分子葡聚糖凝胶 G-15 <1500 缓冲液交换、脱盐, 分离小分子, 去除小分子葡聚糖凝胶 G-25 1000-5000 工业上脱盐及交换缓冲液葡聚糖凝胶 G-50 1000-30000 多肽分离、脱盐、清洗生物提取液、分子量测定葡聚糖凝胶 G-75 2000-70000 蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定葡聚糖凝胶 G-100 2000-120000 蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定葡聚糖凝胶 G-150 5000-300000 蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定葡聚糖凝胶 G-200 5000-600000 蛋白分离纯化、分子量测定、平衡常数测定

### 方法与步骤

#### 1) Sephadex G-100 凝胶预处理

a) 100ml 烧杯, 称取 5 克 sephadex G-100, 加入 50ml 去离子水, 浸泡溶胀 24 小时。

b) 倾去 sephadex G-100 溶胀后凝胶上层的水, 加入凝胶等体积的 1.0 mol/L NaOH 液处理, 用搅棒轻轻搅动, 并浸泡 1 小时处理后倾去。用去离子水洗涤。洗涤过程中, 用倾去法除去细颗粒。其方法是用搅棒将凝胶搅匀(注意不要过分用力搅拌, 以防止颗粒破碎), 放置数分钟, 将未沉淀的细颗粒随上层水倒掉。浮选 3-5 次, 直至上层没有细颗粒为止, 再浸泡水洗至 PH 中性。

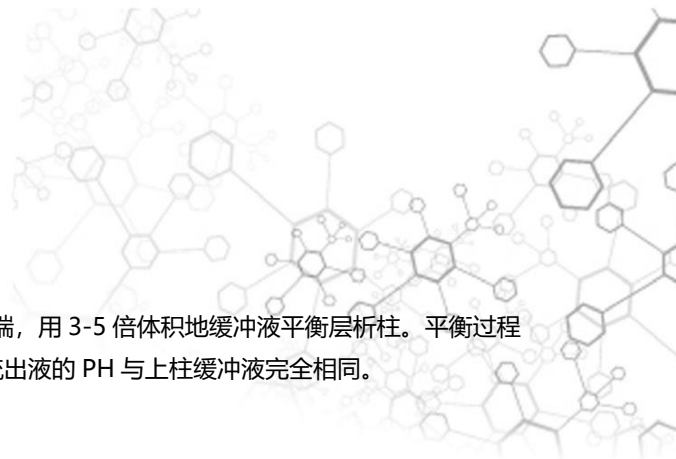
c) 将 Sephadex G-100 凝胶水溶液盛放于抽滤瓶中, 用洗耳球塞住杯口减压抽气 30 分钟, 除去凝胶溶液内的气泡, 将脱气后的凝胶溶液轻轻倒入烧杯中, 其中盛有 1/2 去离子水。

#### 2) 装柱

a) 层析柱(1.0, 1250px)用水清洗干净, 柱的上、下端联接塑料管接上小乳胶管, 装上螺旋夹。将层析柱垂直装好。校直过程用下端绑有钥匙的绳子挂于铁架的不同位置, 从多角度校正使柱垂直。打开柱上端口, 从柱底下出口管朝柱内注入水, 使柱底全部充满水而不留气泡, 关闭柱出口最终柱内留存有 2 cm 的水。从出口处接上一根直径 2 mm 细塑管, 塑管另一端固定在柱的上端部位。

b) 搅动凝胶溶液(切勿搅动太快, 以免空气再次逸入), 使形成均一的薄胶浆, 并立即沿玻棒倒入层析管内, 让加入的凝胶在柱内自然沉降, 待柱底面上积起约 1-2 cm 的凝胶床后, 打开柱出口水流。随着柱内水的流出上面不断加入凝胶液, 使形成的凝胶床面上有凝胶连续下降(如果凝胶床面上不再有凝胶颗粒下降, 应该用搅棒均匀地将凝胶床搅起数厘米高然后再加凝胶, 不然就会形成界面, 影响层析效果)c) 凝胶沉积到柱内凝胶是否均匀, 有否“纹路”或气泡。若层析柱不均一必须重新装柱。





### 3)平衡

柱装好后,使层析床稳定 15-20 分钟,然后连接洗脱瓶出口和层析柱顶端,用 3-5 倍体积地缓冲液平衡层析柱。平衡过程中控制上柱缓冲液地进柱操作压保持恒定。保持流速每滴/10 秒。直至流出液的 PH 与上柱缓冲液完全相同。

### 4)样品洗脱

#### a)上样准备:

i)上样前打开层析柱上端,先检查凝胶床界面是否平整,如果倾斜不平整,可用玻棒将凝胶床界面轻轻搅起后,再使凝胶自然沉降形成平整状态的凝胶床界面。用毛细吸管小心吸去大部分清液,然后让液面自然下降,直至几乎露出凝胶床界面。

ii)样品放入高速离心机,12000r/min、离心 5 min。

iii)上样前吸取 50ul 样品于 EP 管中,以备走电泳。

#### b)样品上样:

i)将样品由玻棒引流沿管壁加入到凝胶床面上,注意不要将床面凝胶冲起。同时打开层析柱下面流出液开关(控制流速 1 滴/20 秒)保持层析柱下面流出滴速与上样的滴速一致,控制凝胶床界面不能脱水,并控制样品区带尽量狭窄。

ii)当 1.5ml 样品全部加入后,用 1-2 ml 的 0.5mol/L PH8.0 Tris-HCl 洗脱液同上样时一样地保持层析柱下面流出滴速与上样的滴速一致以控制凝胶床界面不能脱水,小心清洗凝胶床界面表面,使黏附着的样品全部洗入凝胶床。

iii)然后开始控制上样的滴速大于层析柱下面流出滴速,使几乎与凝胶床界面相平的洗脱液液面慢慢提高至凝胶床界面高出 50px 左右封闭层析柱上端。

iv)保持层析柱上柱洗脱液入口处与层析柱下面流出处有一定势压。控制上柱缓冲液的进柱操作压保持恒定。

#### c)洗脱:

用 0.1 mol/L PH8.0 Tris-HCl 缓冲液洗脱,用部分收集器收集,4 分钟/管(约 2-3ml/管),收集约 1-30 管,

### 5)酶活、酶浓度测定等应用

