

活化巯基琼脂糖凝胶 FF

一、简介

活化巯基琼脂糖凝胶 FF，可以用于共价色谱纯化各种带巯基的物质，也可以用于偶联这些带巯基的物质，所以用途非常广泛。

活化巯基琼脂糖凝胶 FF 由于应用新的合成方法，所以配基密度高，流速快，非特异吸附少，是纯化及固定带巯基物质最适合的填料。

二、亲和填料特征：

特点	载量大，流速快，寿命长。
基质	交联琼脂糖凝胶
配基	巯基吡啶
配基密度	15-30 μ mol /ml 或 20-40 μ mol /ml
平均粒径	90 μ m
最大流速	300cm/h
pH 范围	3-10，在位清洗时 pH 范围可到 2-11
保存温度	-20 $^{\circ}$ C
保存状态	干粉

三、适用范围

纯化或偶联各种巯基物质。

四、应用实例

实验名称：活化巯基琼脂糖凝胶固定木瓜蛋白酶。

实验步骤：

- 1、取 100mg 木瓜蛋白酶加 0.2M Tris-HCl 冲液 pH8.0, 含 2mM EDTA 10ml 溶解, 留 0.1ml 用于测定偶联效率。
- 2、取 1g 活化巯基琼脂糖凝胶(溶胀后 5ml)加到上面溶液中, 4 度, 震荡反应 16 小时。
- 3、洗干净填料得到偶联后的填料。

如果是偶联小分子的物质用 0.2M 碳酸氢钠溶液含 2mM EDTA 溶解, 可以室温反应 6-10 小时即可。

实验名称：活化巯基琼脂糖凝胶纯化木瓜蛋白酶。

实验步骤：

- 1、取 10ml 的活化巯基琼脂糖凝胶 FF 装 1.6x20cm 柱子。
- 2、用 100mM pH 8.0 Tris-HCl 含 1mM EDTA 缓冲液平衡 10 个柱床体积, 流速 2ml/min
- 3、100mg 木瓜蛋白酶溶解在 10ml 100mM pH 8.0 Tris-HCl 含 1mM EDTA 溶液中, 过滤,

然后按 0.5ml/min 上样.

- 4、用 100mM pH 8.0 Tris-HCl 含 1mM EDTA 2ml/min 洗到基线不再变化.
- 5、再用 100mM pH 8.0 Tris-HCl 含 1mM EDTA 含 50mM 巯基乙醇洗脱,收集洗脱峰可得纯化后的木瓜蛋白酶.样品需要用除盐柱除去生产的硫代吡啶酮。
- 6、纯化后填料的再生方法: 用完的填料再用 5 倍填料体积的 100mM pH 8.0 Tris-HCl 含 1mM EDTA 及 20mM DTT 清洗柱子,流速 2ml/min; 然后用 100mM pH 8.0 Tris-HCl 含 1mM EDTA 洗 10 个柱床体积; 后用 100mM pH 8.0 Tris-HCl 含 1mM EDTA 配成 50%乙醇溶液 60ml 其中含 30mg/ml 二硫代联吡啶,1ml/min 过柱子,最后用 50%乙醇洗洗 10 个柱床体积 4 度保存。

五、 应用的注意事项:

- 1、活化的填料-20 度密封保存, 这样可以保存放 2 年。如果要偶联的蛋白不稳定, 可在摇床上 4℃ 振荡偶联 16-24 小时, 以维持配基的活性。如果配基的稳定性不了解, 可以用配基配相应浓度的溶液 0.5-1ml, 分别选择不同 pH 及温度然后不加填料模拟偶联条件, 观察溶液是否有沉淀, 有沉淀偶联效果就不好, 可以稍微降低 pH 或温度, 同时可以加 5%左右的甘油或 PEG 保护蛋白,避免沉淀, 总之对于任何配基最好能了解其溶解性及稳定性, 避免实验失败导致损失。此填料只能用于带游离巯基的物质, 但是对普通的二硫键没有亲和力。如果是用于纯化可以直接把填料溶涨于 100mM pH 8.0 Tris-HCl 含 1mM EDTA 缓冲液平衡, 比例为 10ml/g, 室温放半小时后轻微搅拌除气即可装柱, 其他步骤使用按说明操作即可。
- 2、偶联配基后尽快清洗填料, 避免在高 pH 条件中, 配基失活。
- 3、更稳定的配基可以直接溶解于 0.2M 碳酸氢钠 (含 2mMEDTA) 溶液中室温偶联, 温度偶联时间则相应缩短至 6-12 小时。
- 4、偶联蛋白的最适 pH 为可以在 8.0 左右, 在室温或 4℃ 均可, 温度提高均能增加配基的吸附载量, 根据蛋白的稳定选择合适的 pH 和温度, 偶联蛋白溶液的浓度为 5-15mg/ml。填料体积和配基溶液的体积为 1: 1.5 或者为 1: 2。
- 5、偶联的缓冲液包括碳酸盐、硼酸盐和磷酸盐缓冲液, 但绝对不能使用巯基的缓冲体系或者还原剂。
- 8、在偶联中可以用磁力搅拌器或者别的机械搅拌, 但是需要速度慢些, 只要把填料能混匀完全悬浮起来即可, 避免剧烈搅拌使填料有小颗粒降低流速。
在 20%乙醇中, 4℃ 下长期保存。
- 9、本公司提供两种巯基活化的填料, 如果是偶联小分子或纯化大分子的物质可以选择长手臂的巯基活化填料, 如果是偶联大分子或纯化小分子的物质可以选择短手臂的活化巯基琼脂糖凝胶。

本产品有严格的生产质量控制标准，我们力求为您提供最满意的产品、最完备的技术支持和服务，欢迎业内朋友交流合作。

除了为您提供各种包装规格的**活化巯基琼脂糖凝胶 FF**外，我们还提供其它各种填料、柱子和其他服务，包括：

- 1、填料和柱子选择以及预实验
- 2、开发各种生物大分子的分离纯化工艺，为您解决分离纯化的难题
- 3、帮助您合成特殊要求的色谱填料，包括偶联各种配基
- 4、按客户要求提供各种填料及规格的预装柱，并配相应接口用于各种纯化设备。
- 5、代理各种进口填料，为客户提供最专业的售前和售后服务。

产品目录：

产品序列号	产品名称	包装	配基密度 umol/ml	特性及应用	平价粒径(μm)	耐压 (MPa)	最大流速
CS-A31-00	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	5 克	15-30	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A31-01	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	15 克	15-30	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A31-02	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	50 克	15-30	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A31-03	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	250 克	15-30	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A31-04	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	大包装	15-30	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A32-00	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	5 克	20-40	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A32-01	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	15 克	20-40	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A32-02	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	50 克	20-40	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A32-03	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	250 克	20-40	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h
CS-A32-04	活化巯基琼脂糖凝胶 FF	大包装	20-40	固定及纯化带巯基物质	90	0.3	300cm/h

北京韦氏博慧色谱科技有限公司

电话：010-67804548 13911415318；联系人：韦新桂 E-mail: weixingui@263.net

公司网站：www.wsac.cn 传真：010-67804548。

定货请参考光盘中的定货须知。购买本公司产品可获得一张内容非常丰富的纯化光盘，包括表达，提取，分离，酶切等操作指南以及各公司纯化产品的说明书及手册，是生物大分子分离纯化难得的学习材料。