

Sephadex G-type 凝胶过滤填料

产品简介

GE 的 Sephadex 系列的凝胶过滤填料是珠状凝胶，它是葡聚糖和环氧丙烷偶联介质，拥有极高的选择性。不同型号具有不同分离范围，颗粒大小不同。粗颗粒流速较快，细颗粒流速较慢，分辨率较高。

其主要应用在低和高分子量分子间的分离。常常应用于脱盐、缓冲溶液的置换、去除一些生物大分子中的小分子，例如两性电解物、去垢剂、放射性荧光标记物、苯酚等等。

产品信息

货号	产品	包装	货号	产品	包装
17-5064-01	Sephadex	100g	17-0044-03		5kg
17-5064-02	G-10	500g	17-0043-01	Sephadex	100g
17-0020-01	Sephadex	100g	17-0043-02	G-50	500g
17-0020-02	G-15	500g	17-0043-03	Medium	5kg
17-0020-03		5kg	17-0042-01	Sephadex	100g
17-0034-01	Sephadex	100g	17-0042-02	G-50	500g
17-0034-02	G-25	500g	17-0042-03	Fine	5kg
17-0034-03	Coarse	5kg	17-0041-01	Sephadex	100g
17-0033-10	Sephadex G-25	25g	17-0041-03	G-50 Superfine	500g
17-0033-01	Medium	100g	17-0050-01	Sephadex	100g
17-0033-02		500g	17-0050-02	G-75	500g
17-0033-03		5kg	17-0050-03		5kg
17-0032-01	Sephadex	100g	17-0051-01	Sephadex	100g
17-0032-02	G-25 Fine	500g	17-0051-03	G-75 Superfine	5kg
17-0032-03		5kg	17-0060-01	Sephadex	100g
17-0031-01	Sephadex	100g	17-0060-02	G-100	500g
17-0031-02	G-25	500g	17-0060-03		5kg
17-0031-03	Superfine	5kg	17-0060-15		1.5kg
17-0044-01	Sephadex	100g	17-0061-01	Sephadex	100g
17-0044-02	G-25 Coarse	500g		G-100 Superfine	

2009-6 volume26

产品性能

-Gel Type	Fractionation Range, Globular Proteins (D)	Fractionation Range, Dextrans (D)	Approx. Bed Volume (mL swelled per g dry)	Approx. Dry Bead Diameter (µm)	Approx. Maximum Operating Pressure (bar)
--10	≤700	≤700	2-3	40-120	*
G-15	≤1500	≤1500	2.5-3.5	40-120	*
G-25 Superfine Fine Medium Coarse	1000-5000 (all grades)	100-5000 (all grades)	4-6 (all grades)	20-50 20-80 50-150 100-300	*
G-50 Superfine Fine Medium Coarse	1500-30000 (all grades)	500-10000 (all grades)	9-11 (all grades)	20-50 20-80 50-150 100-300	*
G-75 --75 Superfine	3000-80000 3000-70000	1000-50000 1000-50000	12-15 12-15	40-120 20-50	0.16 0.16
-G-100 G-100 Superfine	4000-150000 4000-100000	1000-100000 1000-100000	15-20 15-20	40-120 20-50	0.096 0.096
G-150 ** G-150 Superfine	5000-300000 5000-150000	1000-150000 1000-150000	20-30 18-22	40-120 20-50	0.036 0.036
G-200 ** G-200 Superfine	5000-600000 5000-250000	1000-200000 1000-200000	30-40 20-25	40-120 20-50	0.016 0.016

*前四种凝胶与 G-75 至 G-200 相比，孔径小，相对较硬，但总体而言，由于 sephadex G 类凝胶基材为糖基，与纤维素基材的 cellufine GH-25 相比机械强度低，耐压性差，而 cellufine GH-25 填料，压力与流速成线性关系，机械稳定性好，适合在高流速下使用。
在第 28 期电子期刊我们将详细介绍 cellufine GH-25，敬请关注！！

** Sephadex G150, G150SF, G200 & G200SF 不再生产。

2009-6 volume26

操作技术信息

1、洗脱液的选择:

- 洗脱液不会直接影响分辨率。
- 为了避免离子的影响，洗脱液的离子强度应该至少是 0.15M
- 选择的洗脱液要为样品蛋白提供很好的溶解性和稳定性。
- 选择合适的洗脱液常常能够简化后续的分步步骤。例如，为了后续的离子交换层析，可用开始的缓冲溶液平衡柱子。

2、洗脱液的准备

- 使用色谱级或分析级溶剂，盐，和缓冲液
- 用清洁玻璃器皿配制并存储洗脱液
- 洗脱液可用 0.22 μ m 的无菌过滤器过滤而且在使用前最好脱气。
- 不使用时在 4 $^{\circ}$ C 条件下存储洗脱液，为了防止细菌生长，可以添加抗菌剂。
- 低温存储的洗脱液应放至室温后再使用，以防止产生气泡（如果在使用前洗脱液已储存，建议可先除去气体）

3、样品制备

- 当使用的填料粒径范围为10-15 μ m时，样品量 \leq 0.5%柱体积；当填料粒径范围为30-100 μ m时，上样量 \leq 5%柱体积。
- 在组分分离时，比如脱盐，上样量可达到 30 %柱体积。
- 当重复实验时，采用相同的方法制备样品，保持样品的浓度和体积不变。
- 选择的层析条件要保证样品是稳定的和可溶的。
- 通过离心（例如，10 000g 离心 10min）或过滤去除样品中的微粒（如果样本是溶解在有机溶剂，一定要选择耐有机溶剂的过滤器）
- 如果样品有较高的粘度，用洗脱液进行稀释。（避免大于 30mg 蛋白/ml 样品）
- 在低温下存储样品，除非这导致样品析出或沉淀；避免长期存储，除非可以存储在-70 $^{\circ}$ C
- 使用蒸馏水
- 使用色谱级或分析级溶剂，盐，和缓冲液。

4、实现分离最优化

2009-6 volume26

- 样品量—上样量越少，分辨率越高。
- 流速—高分子量物质（蛋白质），较低的流速有更好的分辨率。但对于低分子量物质（小肽）与其相反。因为他们扩散速度较快，所以分离时间越长，样品扩散区域越广。
- 柱长度—将两个柱子串联，可提高有效柱床高度。
- 缓冲液的选择和 pH 值通常影响较弱。然而，低 pH 值可提高疏水相互作用，在某些情况下常常能改善物质分离（如肽类混合物的分离）

应用实例综述

Sephadex G-25 分离应用实例

1、微型脱盐——样品量 50 μ l

Hellman 和其合作者对烷基化物的混合物进行脱盐，上样量 50 μ l，柱子：0.32*10cm，装填 sephadex G-25 Superfine .

(文献: U. Hellman, E. Wiksell, B.-M. Karlsson, A new approach to micropreparative desalting exemplified by desalting a reduction/alkylation mixture, presented at Eight International Conference on Methods in Protein Sequence Analysis, Kiruna, Sweden, July 1–6, 1990)

2、实验室脱盐——样品量 1.4ml

图 1 表明了 1.4ml 的样品进行实验室规模的快速脱盐。

Column: HiTrap Desalting

Sample: 2mg/ml BSA in 50mM sodium phosphate
0.5M sodium chloride buffer PH7.0

Sample volume: 1.4ml

Eluent: 50mM sodium phosphate. 0.15M sodium
Chloride buffer PH 7.0

Flow rate: 10ml/min (6 seconds/ml)

Detection: UV(280nm, 5 mm cell) and conductivity

Instrumentation: FPLC System

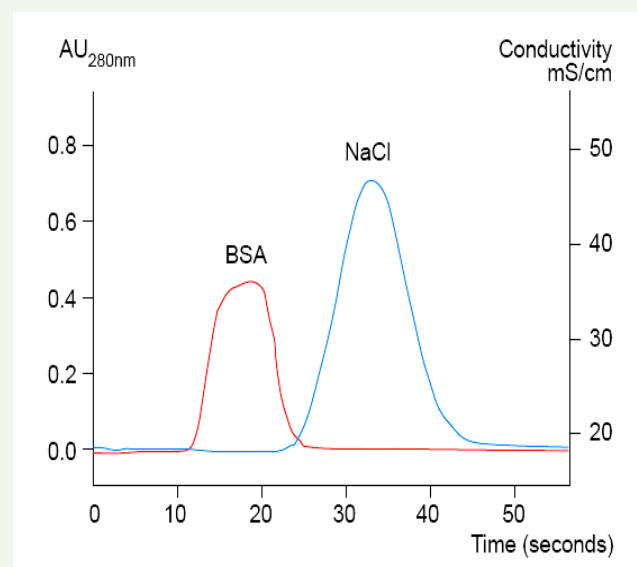


图 1 实验室规模的快速脱盐

2009-6 volume26

3、大规模的分选——样品量 6L

M.Pauhlson 用一个 BPG450sephadex G-25 Superfine 预装柱从低分子量的杂质中提取过敏原进行中级组分分离。柱床高度 15cm, 床体积为 25L, 样品体积高达 6L(占最大载量的 24%), 流速为 1.1cm/min, 循环一次的时间为 17 分钟, 稀释因子为 1.4。

4、大规模的分选——样品量 12L

L.Hagel 等人去除人血清白蛋白中的乙烷。样品量是 9%蛋白溶液 12L, 循环一次的时间为 17.4min, 用 40*60cm 的柱子, 装填了 sephadex G-25 Coarse。这个实验的生产率相当于 50g/h。

5、大规模的分选——样品量 875L

Horton 等人用装有 Sephadex G-25 Coarse 的 2500L 的柱子对粗糙的酶制剂脱盐。所用的柱子是不锈钢的 GF 18-10 (100*180cm i.d.), 样品体积为 875L(占柱体积的 35%), 流速为 62.5L/min, 循环一次的时间为 1 小时。论文也提供了 Sephadex G-25 Coarse 和 Sephadex G-25 Medium 两种填料生产率的对比如表 1。结论是 Sephadex G-25 Coarse 生产率更高。生产率的数据也是符合图 2 的。流速和相应的样品体积越低, 样品浓度比理论值越高。

Parameter	Sephadex G-25 Coarse	Sephadex G-25 Medium
Sample volume(L)	31	37
Relative sample volume	25	30
Sample capacity(L/h)	70	18
Salt concentration in Product(%)	0.4	0.04
%salt removed	98.0	99.9
Albumin conc.in Product(%)	4.0	5.0
Dilution factor of albumin	1.5	1.2
Albumin processed(g/h,L)	4125	1170
Productivity(g/h,L)	33	9
Cost per kg of albumin(USD)	0.64	2.20

表 1 不同粒径 Sephadex G-25 生产率对比

2009-6 volume26

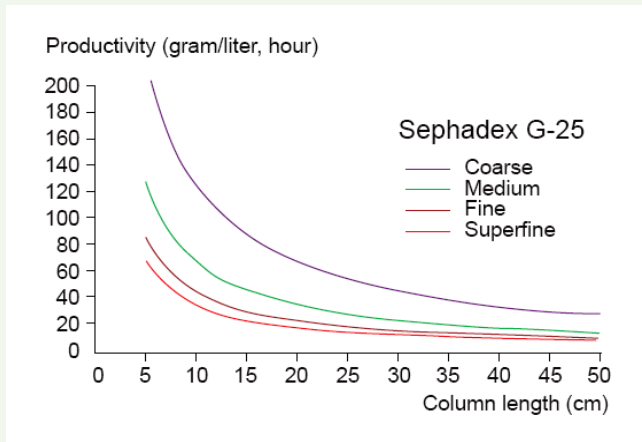


图 2 不同粒径 sephadex G-25 生产率和柱长的关系



图 3 实际生产中串联 3 个 BPSS 柱

6、大规模分离

图 3 表明了在最后精细分离时将 3 个 BPSS 柱子（BioProcess Stainless Steel）联在一起进行大规模的组分分离。

Bed Volume (L)	Column type	Bed dimensions (length × i.d.cm)	Sephadex grade	Application	Sample load (%)
25	BPG 450	15 × 45	Superfine	Intermediate purification of Allergen extract	24
75	BPSS400	60 × 40	Coarse	Buffer exchange of hybridoma Cell culture supernatant	20
125	GF 04-10	100 × 40	Coarse	Desalting of albumin	25
170	BPSS 600	60 × 60	Coarse	Initial desalting of plasma	15
2500	GF 18-10	100 × 180	Coarse	Intial enzyme purification	35
2500	GF 18-10	100 × 180	Coarse	Desaling of whey	22

表 2 用 Sephadex G-25 进行大规模分离的实例

结论:

- 1、sephadex G-25 适合于蛋白质和 DNA 脱盐。Sephadex G-25 Coarse 对于工业化规模，特别适合于大量样品快速分离，因为这种要求高生产率。样品稀释度要求最小化情况时，较小的粒径填料能实现更高的分辨率，需要 SephadexG-25Medium.
- 2、对于实验室规模来讲，推荐使用 sephadex G-25Medium sephadex G-25 Fine,这样能确保较低的稀释度。
- 3、对于微型实验来讲，用非常少的样品体积，可以选择 sephadex G-25Superfine.

学习园地

Sephadex G 类填料应该怎样装柱？

凝胶的溶胀

Sephadex 是干粉形式提供给客户的，使用前必须要用过量的缓冲溶液进行溶胀。用 0.22 微米膜过滤缓冲溶液可以防止微生物的生长。

根据所用的柱子体积计算出所用的凝胶干粉的量（表 1 表明了不同型号凝胶的溶胀系数），如果在最大的压力条件下装填，需要选择最小的溶胀系数来计算所需的凝胶干粉的量。

1、加足够的缓冲溶液，一般为柱体积加上 30%柱体积。不同型号凝胶溶胀时间不同，表 2 为不同型号对应的溶胀时间。通过沸水浴能加快这个过程。

Gel Type	Swelling Time, 20° C (hr)	Swelling Time, 90° C (hr)	Gel Type	Swelling Time, 20° C (hr)	Swelling Time, 90° C (hr)
G-10	3	1	G-75 (all grades)	24	3
G-15	3	1	G-100, G-100 SF	72	5
G-25 (all grades)	3	1	G-150, G-150 SF	72	5
G-50 (all grades)	3	1	G-200 G-200 SF	72	5

表 3 不同型号凝胶溶胀条件及时间

2009-6 volume26

- 2、溶胀完成后，倒掉浮在表面破裂的凝胶碎片。
- 3、加缓冲溶液制成 75%的悬浮液。
- 4、在悬浮液装柱前进行脱气。

自然沉降的方法装柱

- 1、将整个匀浆倾入层析柱，必须一次完成，尤其注意在装柱过程中不要产生气泡。
- 2、由于重力作用填料开始堆积。

使用流速调节器装填

好的装填对于要获得好的分辨率至关重要。理想的，柱子应该在凝胶不变形且能承受最高压力条件下装填。

对于 sephadex G-10 到 sephadex G-50,这些凝胶颗粒属于相对较硬的凝胶。而柱子的耐受压力为限制因素。

对于相对较软的凝胶，Sephadex G-75 到 Sephadex G-200，要注意不能让凝胶变形。不要超过表 1 中压力耐受值。

对于大部分柱子来讲，使用时必须稍微降低最大操作压力。流速和柱床高度成反比的：增加柱床高度将降低流速，但是并不会影响最大操作压力。

- 1、如有必要可以使用存储器，将整个匀浆倾入层析柱。
- 2、开始使用泵。
- 3、一旦所有凝胶沉积到层析柱，去掉存储器。
- 4、使用流速调节器并用最大的操作压力装填。
- 5、一旦凝胶彻底装填完。调整流速适合凝胶柱床表面。
- 6、使用前用至少 2-3 个柱体积的缓冲溶液冲洗柱子，这样压实并平衡柱床。
- 6、再次调整流速调节器使其适应凝胶表面。

清洗

- 1、用 2 个柱体积的 0.2M 的 NaOH 或者是非离子去垢剂清洗。在用 NaOH 清洗多孔的 sephadex 型号（G-50 至 G-200）时，应该在柱外进行清洗，因为这些凝胶会溶胀。
- 2、在下次使用前，用 2-3 个柱体积的缓冲溶液重新平衡凝胶。如果有必要，可以将凝胶从柱中倒出，在 120 °C，pH 值为 7 时进行消毒灭菌。

2009-6 volume26

保存

- 1、将没有用过的凝胶干粉保存在 2-8℃。
- 2、使用过的凝胶可在 2-8℃条件下用 20%的乙醇保存或者用微生物抑菌剂 0.002%的洗必泰或 0.02 %叠氮化钠溶液。

北京总公司:

地址: 北京回龙观西大街龙冠大厦 719 室

邮编: 102208

热线: (10)-51528296, 51528297, 51528298,

传真: (10)-51528299

邮箱: sales@prep-hplc.com

网站: www.prep-hplc.com

上海办事处:

地址: 上海张江益丰路 55 弄春港丽园 67 号 201 室

邮编: 201203

电话: 021-58950178

传真: 021-58950178

更多产品信息欢迎来电咨询!!!