

葡聚糖凝胶 G-25 Medium 使用说明书

为确保产品的性能和无忧的操作，使用前请仔细阅读本手册，有任何疑问请咨询本公司售后技术支持或当地的销售人员。

1. 产品介绍

G-25 Medium 是根据介质的交联程度不同，溶胀后的粒径和孔径的大小而对不同分子量生物分子进行分离纯化，主要用于样品的脱盐、缓冲液置换及小分子杂质去除。

特点如下：

- 操作简便（既可以与注射器或泵连接，也可以以重力柱的方式进行）、迅速（5-25min 内即可完成）。
- 效果显著（脱盐率>98%）。
- 回收率高（蛋白回收率≥85%-95%）。
- 易于放大（可以根据需求进行多个串联及其它大规格层析柱的装填）。

表1：性能参数

基质	葡聚糖
干粉粒径	45-165 μ m
溶胀度	4-6ml/g
排阻限（球蛋白）	5 kDa
pH 稳定性	2-13
外水体积	30% CV*
样品加载体积	5%-30% CV*
化学稳定性	所有常用的缓冲液
最大流速	150cm/h
操作压力	≤0.3MPa
贮存溶液	20%乙醇（溶胀后介质）
贮存温度	4-30 $^{\circ}$ C

*：CV 指柱体积。

2. 使用（以 HT 5ml 为例，具体使用效果见案例一）

说明：本公司此产品以干粉形式保存和发货，称取适量干粉用 8-10 倍干粉体积的纯化水溶胀过夜（或沸水溶胀 1h 以上），装柱后即可使用。

a. 水洗

用 2-5 倍柱体积纯化水以 1.0-10.0ml/min 清洗介质。

备注：此步骤用清水（第一次使用）或去除介质中 20%乙醇（重复使用）。

b. 平衡

用 2-5 倍柱体积平衡液以 1.0-10.0ml/min 平衡介质。

备注：此步骤用于平衡介质，保证介质中充满平衡液。



c. 上样

样本经过离心、过滤（0.45um）后以 1.0-10.0ml/min 进行上样。

备注：样品必须经过离心、过滤处理，上样体积为 0.25-1.5ml。

d. 洗脱

用 2-5 倍柱体积洗脱液以 1.0-10.0ml/min 进行洗脱，并收集洗脱液。

备注：选择合适的收集时间段，收集时间段的选择对回收率和脱盐率有一定的影响。

e. 水洗

用 2-5 倍柱体积纯化水以 1.0-10.0ml/min 清洗介质。

备注：此步骤用于去除介质中的洗脱液。

f. 保存

用 2-5 倍柱体积 20%乙醇以 1.0-10.0ml/min 清洗介质后保存。

备注：20%乙醇可以防止微生物的生长，20%乙醇保存的介质可以在 4-30℃（4-8℃更佳）保存。

g. 溶液配制

平衡液/洗脱液：平衡液和洗脱液为同一种溶液，根据客户需求进行配制。

备注：建议在目标溶液中加入一定浓度的盐（至少 0.025 M）用来抑制样本和介质的离子相互作用；当盐浓度>1.0 M 时，疏水性样本会与介质有轻微的结合；在更高浓度的盐（>1.5 M）时，介质会有轻微的收缩。

备注：

当使用重力柱和注射器操作时，5ml/min≈100-120 滴/min。

3. 清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性蛋白、脂类等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量、流动性、柱效等）。

建议每使用 5-10 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

a. 用 5-10 倍柱体积低浓度离子型或非离子型去污剂（如 0.5%Triton X-100）冲洗后，立即用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。

备注：用于去除疏水结合物质。

b. 用 5-10 倍柱体积 8M 尿素或 6M 盐酸胍冲洗后，立即用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。

备注：用于去除聚集在介质中的沉淀或变性物质。

c. 用 5-10 倍柱体积的 0.2M NaOH 冲洗后，立即用纯化水冲洗至 pH 为中性。

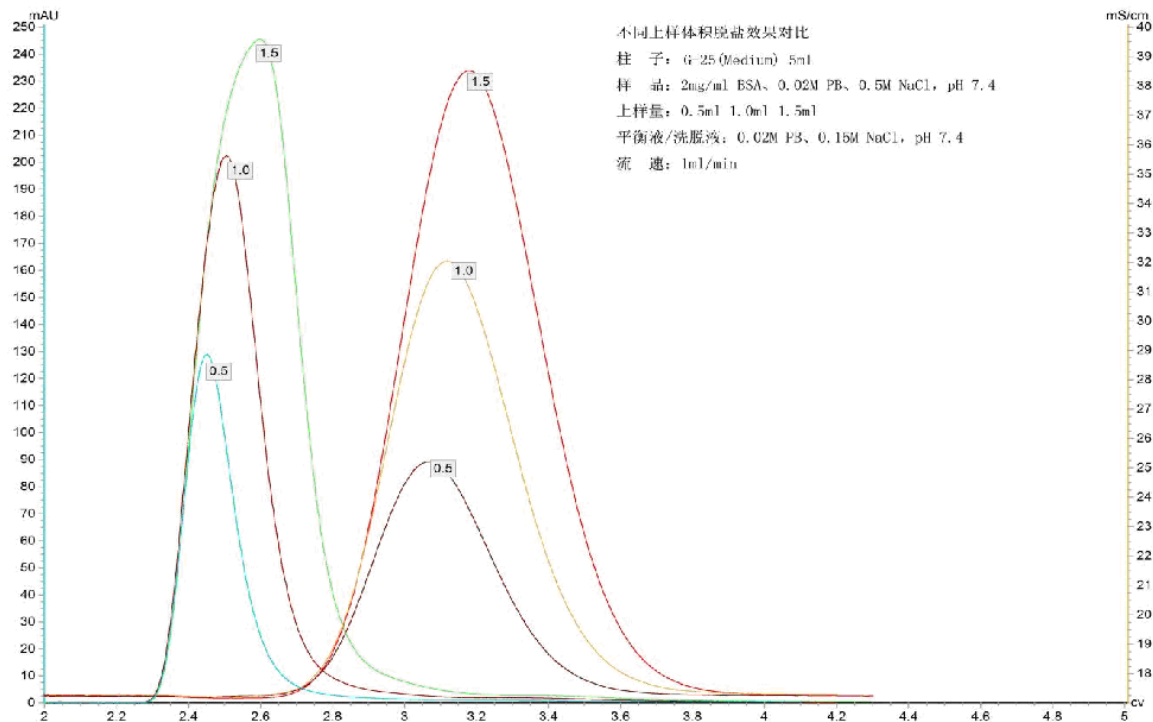
d. 用 5-10 倍柱体积的 20%乙醇冲洗后保存。

备注：20%乙醇可以防止微生物的生长。



4. 应用案例

案例一



备注：由案例一可知，上样量为 30%时，脱盐效果无影响。

表 2：案例一使用效果的相关数据

上样体积 (ml)	收集体积 (ml)	稀释倍数	脱盐率* (%)	回收率** (%)
0.5	1.2-1.5	2.4-3.0	>99	>85
1.0	1.8-2.0	1.8-2.0	>98	>90
1.5	2.0-2.4	1.3-1.6	>96	>95

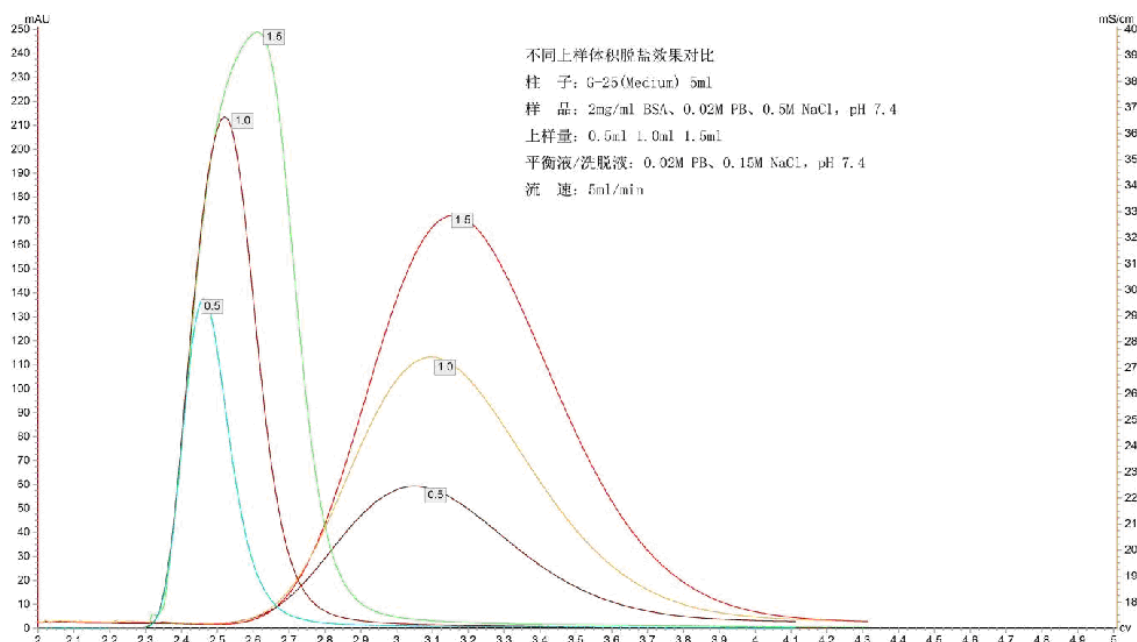
备注：

* 脱盐效果的高低主要取决于收集样本的时间段和上样的体积。

** 回收率取决于样本的性质、收集样本的时间段、以及测量误差（当样本浓度过低时，测量误差较大）。

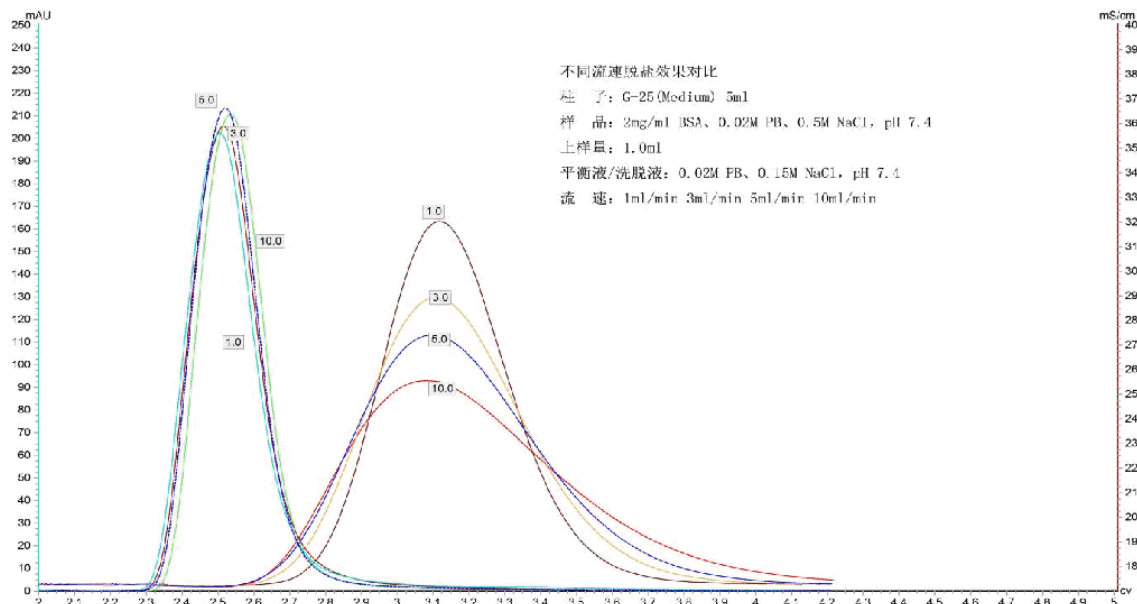


案例二



备注：由案例一和案例二对比可知，上样量为 30%且流速为 5ml/min 时，脱盐效果无影响。

案例三



备注：由案例三可以看出流速的变化（在介质可耐受的流速范围内）对目标样本的浓度、回收率、稀释倍数均无影响，仅对脱盐率有轻微的影响。



5. 常见问题

表 3：常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
回收率低	1.开始收集时间过晚或停止收集时间过早	正确及时的收集目标物
	2.样本与介质发生疏水作用	提高上样流速或降低洗脱流速
	3.样本浓度过低	洗脱后样本被稀释，检测误差增大
	4.脱盐后目标物质溶解度降低或在等电点附近聚集	适当提高洗脱液中盐浓度或调整合适的pH范围
	5.样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	6.介质装填效果不佳	重新装填
	7.分离柱顶部有较大储样体积，造成目标物洗脱时间延迟	重新装填或购买
	8.长期使用后蛋白或脂类在介质中聚集沉淀，造成目标物洗脱时间延迟或残留	及时有效地清洗介质
	9.介质中有微生物生长	介质使用完后，请及时正确保存介质
脱盐效果差	1.停止收集时间过晚	正确及时的收集目标物
	2.上样体积略大	适当的降低上样体积或上样浓度
	3.样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	4.介质装填效果不佳	重新装填
	5.分离柱顶部有较大储样体积，造成目标物洗脱时间延迟	重新装填或购买
	6.长期使用后蛋白或脂类在介质中聚集沉淀，造成目标物洗脱时间延迟	及时有效地清洗介质
	7.介质中有微生物生长	介质使用完后，请及时正确保存介质
色谱峰上升缓慢	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2.蛋白沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性和介质的结



		合效率
	3.分离柱中微生物生长	所用试剂必须经过过滤和脱气； 样品上柱前必须离心或过滤

6. 订购信息

表4：订购信息表

产品	规格(g)	货号
葡聚糖凝胶 G-25 Medium	25	HC2007
葡聚糖凝胶 G-25 Medium	100	HC2007
葡聚糖凝胶 G-25 Medium	500	HC2007

