

# 葡聚糖凝胶 G-75 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销售人员。

## 1. 产品介绍

葡聚糖凝胶 G-75 Medium 是一种凝胶过滤层析介质（也叫体积排阻色谱），适用于生物分子的脱盐、缓冲液置换、组群分离、精细纯化。

特点如下：

- 经典的葡聚糖介质，选择性好。
- 生物大分子（>80kDa）的快速脱盐和缓冲液置换（一步完成）。
- G-75 Medium，可用于组群分离和杂质的去除（以排阻限 80 kDa 为分界点）。
- G-75 Fine，可用于小分子蛋白的分离纯化（3-80 kDa）。

表1：性能参数

基质	葡聚糖
干粉粒径范围	45-165 $\mu\text{m}$
溶胀系数	12-15ml/g
分离范围	3-80kDa（球蛋白）
pH 稳定性	2-10（长期） 2-13（短期）
最大操作压力	$\leq 0.015\text{MPa}$
最大流速	80cm/h
化学稳定性	所有常用溶液：8M 尿素、6M 盐酸胍、所有离子型或非离子型去污剂、 $\leq 25\%$ （V/V）甲醇/乙醇/丙醇，避免极端 pH（ $< 2$ 或 $> 13$ ）和氧化剂
高压灭菌	120 $^{\circ}\text{C}$ $\times$ 30min（湿胶 pH 7.0）
贮存条件	20% 乙醇（溶胀后介质）
贮存温度	4-30 $^{\circ}\text{C}$

## 2. 选择

### 2.1 介质级别的选择

- 快速脱盐、缓冲液置换、组群分离和杂质的去除：选择 G-75 Medium，粒径大、流速快。
- 小分子蛋白分离纯化：选择 G-75 Fine，粒径小、分辨率高。

### 2.2 层析柱的选择

- 快速脱盐、缓冲液置换、组群分离和杂质的去除（上样量可达到 30%CV）：选择粗短型层析柱（柱床高度低，例如 16 $\times$ 20），流速快、周期短。
- 小分子蛋白分离纯化（上样量为 0.5%-4%CV）：选择细长型层析柱（柱床高度高，例如 16 $\times$ 70），柱效高、分辨率好。

备注：CV 指柱体积。

### 3. 使用

#### 3.1 溶胀

取一定量的干粉，加入过量的纯化水（缓冲液:干粉 $\geq$ 20ml:1g），在室温（25℃）溶胀 24 小时或沸水浴溶胀 3 小时。

备注：溶胀过程中可进行柔和的搅拌，杜绝使用高速或剧烈的搅拌方式（例如磁力搅拌等）。

#### 3.2 清洗

待介质自然沉降后，小心的倒出上清液（包括极少量没有溶胀好的干粉和一些漂浮的小颗粒介质），再加入 3-5 倍体积的纯化水进行重悬。

重复此步骤 5 次。

备注：用于清洗产品中残留的微量有机试剂和碱性物质。

#### 3.3 重悬

在清洗好的介质中加入一定量的缓冲液（缓冲液:介质=1:3），用玻璃棒或其它搅拌装置柔和搅拌 3-5 分钟。

#### 3.4 脱气

将重悬后的介质用真空泵或超声清洗装置进行脱气。

备注：对于高效装柱来说，脱气操作是必不可少的步骤。

#### 3.5 装柱

a. 将脱气后的介质用玻璃棒或其它搅拌装置柔和搅拌均匀后，快速、连续加入（用玻璃棒引流，避免引入气泡）到层析柱中。

b. 用恒流（不得超过介质的最大操作压力）或 95% 的最大操作压力进行压柱，保证持续压柱 2-3CV(柱床体积)且最后半小时内柱床高度没有变化。

c. 将转换接头下端温和（不得引入气泡）的压到柱床表面以下 3mm 处。

d. 用  $\leq$ 75% 的压柱流速平衡层析柱 1CV（柱床体积），整个平衡过程中柱床高度不得有变化，否则必须进行重新装柱。

#### 3.6 使用

a. 对于快速脱盐、缓冲液置换、组群分离和杂质的去除，建议初始上样量为 20% CV。

b. 对于小分子蛋白分离纯化，建议初始上样量为 0.5% CV。

c. 当使用分离效果已达到要求时，可以逐步提高上样量。

### 4. 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（流动性、柱效等）。

建议每使用 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和使用情况进行调整。

#### 4.1 在位清洗

a. 用 2-3CV 的 0.2M NaOH 冲洗后，再用纯化水冲洗至 pH 为中性。

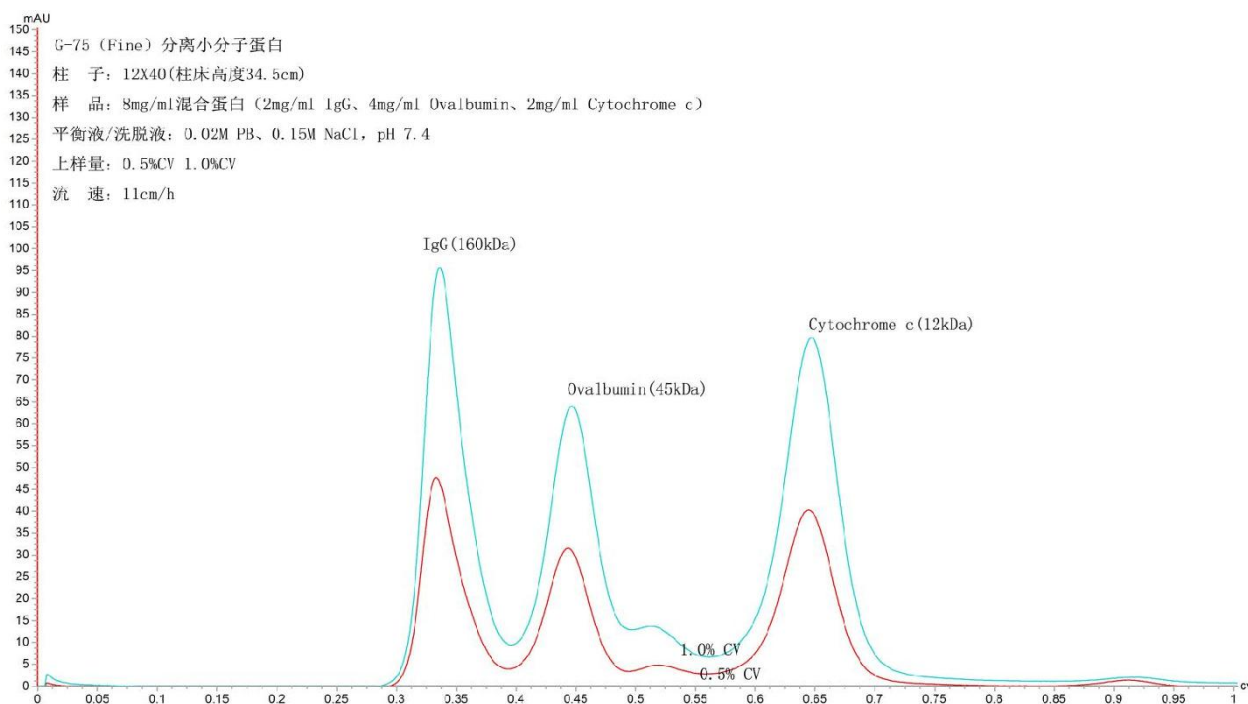
b. 用 2-3CV 的 20% 乙醇冲洗后保存。

## 4.2 单独清洗介质

- 用 1-2 倍介质体积低浓度离子型或非离子型去污剂（如 0.5% Triton X-100）浸泡 0.5 小时，沉降后轻轻的倒掉上清；再用 2 倍介质体积纯化水重悬，沉降后轻轻的倒掉上清，重复用纯化水清洗 3 次。
- 用 1-2 倍介质体积 0.2M NaOH 浸泡 1 小时，沉降后轻轻的倒掉上清；再用 2 倍介质体积纯化水重悬，沉降后轻轻的倒掉上清，重复用纯化水清洗 3 次。
- 清洗完成后，可用直接装柱使用（若不使用，用 20% 乙醇浸泡保存）。

## 5. 应用案例

图 1: G-75 Fine 分离小分子蛋白



## 6. 常见问题

表 2: 常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
目标峰与杂质峰分辨率差	1. 上样体积过大	降低上样量至0.5%CV
	2. 样品太粘稠	适当的稀释样品
	3. 流速太快	降低流速
	4. 柱子太短	选择更长或更细的柱子
	5. 死体积过大	最小化管路和接头的死体积
	6. 柱子装填不佳	重新装柱或使用预装柱
	7. 样品没有过滤	用0.22um或0.45um过滤样品
	8. 介质太脏	清洁柱子并重新平衡
	9. 柱子没有垂直安装	重新装柱

	10.使用温度不均一	推荐维持恒定温度
没有预期的洗脱峰	1.上样量和之前不一致	维持同样的上样量
	2.蛋白和介质之间有离子作用	维持缓冲液中离子强度在0.05-0.15NaCl
	3.蛋白和介质之间有疏水作用	降低离子强度可以最小化疏水作用，也可以通过调高pH、加入去污剂或有机试剂来降低疏水作用
	4.样品在储存的过程中发生改变	制备新鲜的样品
	5.蛋白和脂类在层析柱中沉淀	清洗柱子或更换新的柱子
	6.介质中有微生物生长	柱子使用过程中不会长菌，存放时必须用20%乙醇保存
洗脱峰提前	1.装填的柱子中有间隙	重新装柱
	2.蛋白形成二聚体或多聚体	注意维持样品在实验条件下的稳定性
洗脱峰延迟	1.蛋白和介质之间有离子作用或疏水作用。	维持缓冲液中离子强度在0.05-0.15NaCl
	2.介质、滤膜、柱床顶部很脏	清洁柱子并重新平衡
	3.介质中有微生物生长	柱子使用过程中不会长菌，存放时必须用20%乙醇保存
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	调整洗脱液组分，以维持目标物的稳定性
	3.介质中微生物生长	柱子使用过程中不会长菌，存放时必须用20%乙醇保存
	4.柱床被压缩	重新装柱
柱床中出现气泡	1.使用过程中出现温差或管路中有残留	重新装柱
压力升高	1.样品混浊	制备新鲜的样品
	2.管路、筛板堵塞	清洗管路、筛板、介质，重新装柱

## 7. 订购信息

表3: 订购信息表

产品	规格(g)	货号
G-75 Medium	25	HC2015
G-75 Medium	100	HC2015
G-75 Medium	500	HC2015

备注: 大规格包装产品或其它产品购买, 请咨询本公司当地销售或售前技术支持。