

Technical literature is available at: [www.mesgenbio.com](http://www.mesgenbio.com). E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: [tech@mesgenbio.com](mailto:tech@mesgenbio.com)

**MESGEN**  
INNOVATION BIOTECHNOLOGY

产品规格: 100g  500g

产品批号: 见产品包装

## 产品介绍

Mesdex G-75 是一种凝胶过滤层析介质 (也叫体积排阻色谱), 是一种具有三维网状结构的高分子化合物, 由葡聚糖加入交联剂环氧氯丙烷通过醚键互相交联聚合而成, 交联度越大, 网孔结构就越紧密, 吸水后的体积膨胀就越小, 能允许进入层析介质内部的分子的分子量也就越小, 反之亦然。层析时, 大于层析介质孔径的大分子, 被阻于凝胶相外, 沿着层析介质颗粒之间的间隙走, 下移速度最快, 故最先洗脱下来, 中等大小的分子进入部分层析介质孔中, 洗脱速度次之, 而小分子因为能够进入全部层析介质孔中, 受到阻力最大, 故最后被洗脱下来, 由此, 物质得到分离和纯化。本产品适用于生物分子的脱盐、缓冲液置换、多肽分离、精细纯化、分子量测定。

## 产品特点

- 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)。
- 可用于组群分离和杂质的去除 (以排阻限 80kDa 为分界点)。

表1: 介质性能参数

基质	葡聚糖
干粉粒径	45-165 $\mu$ 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	$\leq$ 0.015MPa
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 $^{\circ}$ C $\times$ 30min (湿胶pH 7.0)
贮存溶液	20%乙醇 (溶胀后介质)
贮存温度	4-30 $^{\circ}$ C

## 层析柱的选择

- 快速脱盐、缓冲液置换、多肽分离和杂质的去除 (上样量可达到 30%CV): 选择粗短型层析柱 (柱床高度低, 例如 XK 16/20), 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 XK 16/70), 柱效高、分辨率好。

备注: CV 指柱体积。

## 1. 分离使用

### 1.1 溶胀

取一定量的干粉, 加入过量的缓冲溶液或者纯化水 (液体 : 干粉  $\geq$  20ml : 1g), 在室温 (25 $^{\circ}$ C) 溶胀 24 小时或沸水浴溶胀 1 小时。溶胀后, 使用缓冲液进行调节, 形成浓稠的浆液, 75% (体积百分比) 左右, 再进行脱气。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、钥匙、玻璃棒搅拌造成填料损坏等）。**

## 1.2 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。**

## 1.3 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。

## 1.4 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。**

## 1.5 装柱

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。

## 1.6 使用

- 对于快速脱盐、缓冲液置换、多肽分离和杂质的去除，建议初始上样量为 20% CV。（视分离情况可以调整）
- 对于小分子蛋白分离纯化，建议初始上样量为 0.5% CV。（视分离情况可以调整）
- 当使用分离效果已达到要求时，可以逐步提高上样量。

**备注：样品中如有杂质或沉淀应该在上样前过滤或离心除去，样品的粘度不能过高，否则影响分离效果。**

## 1.7 洗脱

可以采用无盐水，也可以采用平衡缓冲液做洗脱剂进行洗脱。在平衡缓冲液中加入NaCl等梯度洗脱或者盐梯度洗脱都可以完全分离。

## 2. 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。

### 5.1 在位清洗

- 用 2-3CV 的 0.2M NaOH 冲洗后，再用纯化水冲洗至 pH 为中性。
- 用 2-3CV 的 20%乙醇冲洗后保存。

### 5.2 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）。

### 3. 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	上样体积过大	降低上样量至0.5%CV
	样品太粘稠	适当的稀释样品
	流速太快	降低流速
	柱子太短	选择更长或更细的柱子
	死体积过大	最小化管路和接头的死体积
	柱子装填不佳	重新装柱或使用预装柱
	样品没有过滤	用0.22um或0.45um过滤样品
	介质太脏	清洁柱子并重新平衡
	柱子没有垂直安装	重新装柱
	使用温度不均一	推荐维持恒定温度
没有预期的洗脱峰	上样量和之前不一致	维持同样的上样量
	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
	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
	样品在储存的过程中发生改变	制备新鲜的样品
	蛋白和脂类在层析柱中沉淀	清洗柱子或更换新的柱子
	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	装填的柱子中有间隙	重新装柱
	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	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
	介质、滤膜、柱床顶部很脏	清洁柱子并重新平衡
	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	蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	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
	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
	柱床被压缩	重新装柱
柱床中出现气泡	使用过程中出现温差或管路中有残留	重新装柱
压力升高	样品混浊	制备新鲜的样品
	管路、筛板堵塞	清洗管路、筛板、介质, 重新装柱

**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。

**产品仅供研究, 不得用于临床诊断**