



凝胶过滤填料

凝胶过滤，或尺寸排阻，是一种简单、高效的层析方法，用于蛋白或生物大分子的纯化。但是，大多数凝胶过滤填料都只能在低流速下使用，且分辨率十分有限，因而，很难实现高通量的大规模的制备工作。

Cellufine GCL-2000，一种球形纤维素基的凝胶过滤填料，克服了传统凝胶过滤填料的缺陷，机械稳定性良好，分辨率高，因而，可在高流速下使用，更可用于大规模工业化柱的装填和操作。

Cellufine GCL-2000，可用于分离分子量范围分布很宽的复杂组分，特别适合于高分子量蛋白复合体的组分分离。

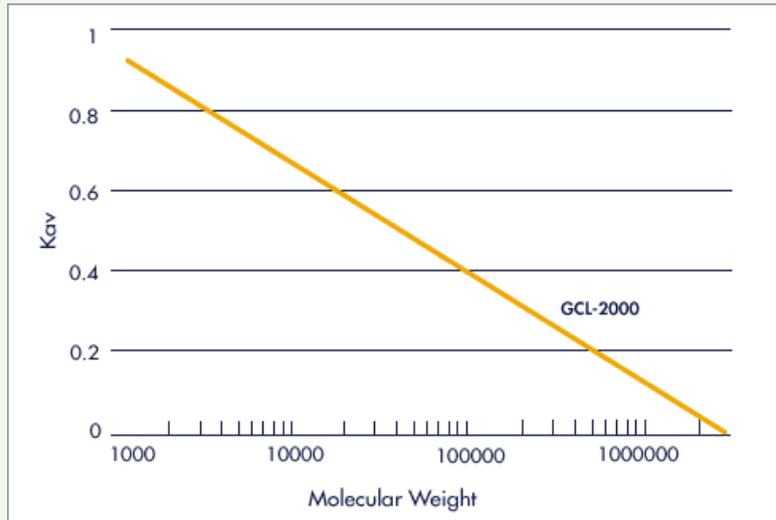


Figure 1
Kav vs. molecular weight curves for proteins

Cellufine GH-25，一种多孔的球形高交联度纤维素基凝胶过滤填料，可用于蛋白的快速除盐。3kD的排阻极限使得蛋白等大分子可以直接通过柱体，而小分子的盐类溶解物在通过柱体的同时，则还需经过填料内部的孔隙，滞后了洗脱的时间，从而达到了蛋白和盐类溶解物的分离。**Cellufine GH-25**，具有良好的机械稳定性，因而可在高流速下使用，不仅可用于装填大直径的制备柱，而且还大大减少了蛋白制备所需的时间。

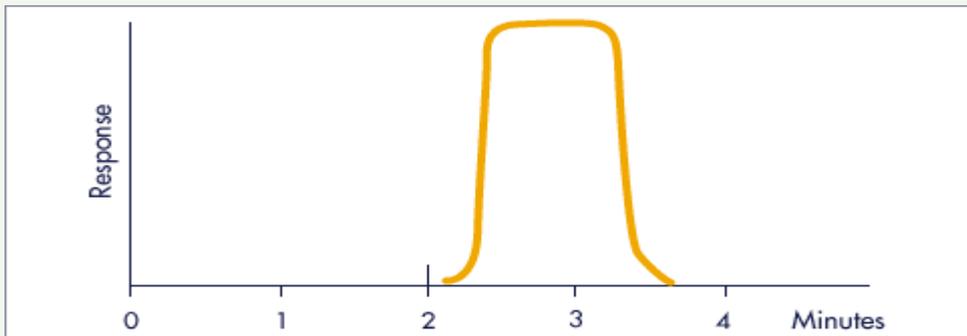


Figure 2
High speed protein desalting

填充物: Cellufine GH-25
柱体积: 105 x 587 mm $V_t = 5086$ ml
流动相: 0.1M NaCl
流速: 1250 ml/min, 870 ml/h/cm²
样品: 5% (w/v BSA) in 1.5M NaCl

样品体积: 1272 ml (25% 柱体积)
盐去除率: 99%
蛋白收率: 99.5%
稀释倍数: 1.13x



默克薄层板

TCL 产品及应用

按照涂层种类来分，默克的 TCL 板有以下五种：

1. Sillica gel 60 以及 Sillica gel 60 F₂₅₄，此为硅胶板，TCL 中超过 90% 的应用是硅胶板；其中 60 代表涂层的硅胶孔径为 60；F₂₅₄ 表示涂层中含有荧光指示剂，此荧光指示剂在 254nm 紫外光下发射绿光；此外，默克还有标识为 F_{254S} 的薄层板，它在 254nm 紫外光下发射蓝光。

2. 改性硅胶板，RP-8, RP-18, NH₂, CN, DIOL。

RP-8, RP-18 是反相薄层板，其色谱行为为和 HPLC 的反相填料相近。但是在使用普通的反相 TLC 板时，展开剂中的水含量不得超过 40%（这是由于发生毛细作用的填料孔的润湿性有限）；如果需要更高的水含量作展开剂，需要选择 RP-18W 的反相薄层板，这种涂层具有低的键合度，涂层表面有更多的残余硅羟基。DIOL 板和硅胶板的选择性非常相近，它具有比硅胶板弱的保留，而且分离不受相对湿度的影响。

NH₂ 板适合于分离糖以及糖的衍生物，羟基化合物可以非常方便地在氨基板上检测出来（在

加热的情况下形成了发蓝色荧光的加合物）。

CN 板越来越多地用于正相分离，使用正己烷和极性有机改性剂作展开剂；同时，CN 板也可以用于反相色谱分离。

3. Cellulose (F)，纤维素板，适合于分离强极性的化合物如儿茶酚，食物色素以及氨基酸。

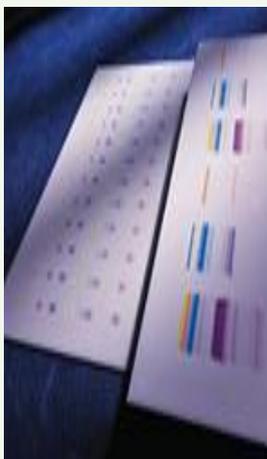
4. Aluminum Oxide，氧化铝板，默克提供碱性和中性氧化铝板，所有的玻璃板全部为碱性氧化铝板，酸性氧化铝板可以通过使用酸性展开剂用中性氧化铝板制备。

5. Polyamide，聚酰胺薄层板。

按薄层板的基材来分可以分为玻璃板，铝板和塑料板，其中铝板由于其方便裁剪，价格便宜赢得用户的青睐。

按薄层板涂层厚度来分，也可以说是按照分离的目的来分类，可以分为普通板（涂层厚度为 0.20mm 或 0.25mm）和制备板（涂层厚度为 0.5mm/1.0mm/1.5mm/2.0mm）。其中普通板用于获得样品的组成信息，而制备板用于纯化样品以获得高纯度的产品，涂层的厚度可以根据待分离样品量的进行选择。

薄层板的保存及使用注意事项



薄层板代表着一个开放的系统，容易受到周围环境的影响。如果板在储存过程中保存不当，非常容易受到湿度、灰尘和烟雾的污染。

同时，由于 TCL 离线操作的特性，在每个独立的步骤（点样、展开、显色衍生以及分离结果评价）都要手工操作，因此需要特别小心以避免破坏 TCL 敏感的涂层。

我们建议：在取拿薄层板时只拿板的边缘，而不是触及涂层表面，如果有需要，展开好的板子应该仅仅拿捏溶剂前沿的那个边缘。薄层板上的污染物不仅仅是富集周围空气中杂质，薄层板的收缩性薄膜包装也是杂质的一个来源。因此储存在原始包装的泡沫塑料盒中的最上面一块板子应该涂层朝下放置。如果我们发现板在紫外光下有暗的溶剂前沿，应该考虑在使用前将板子“预清洗”（一般选择甲醇或三氯甲烷或二者的混合溶液进行预清洗）。

学习园地

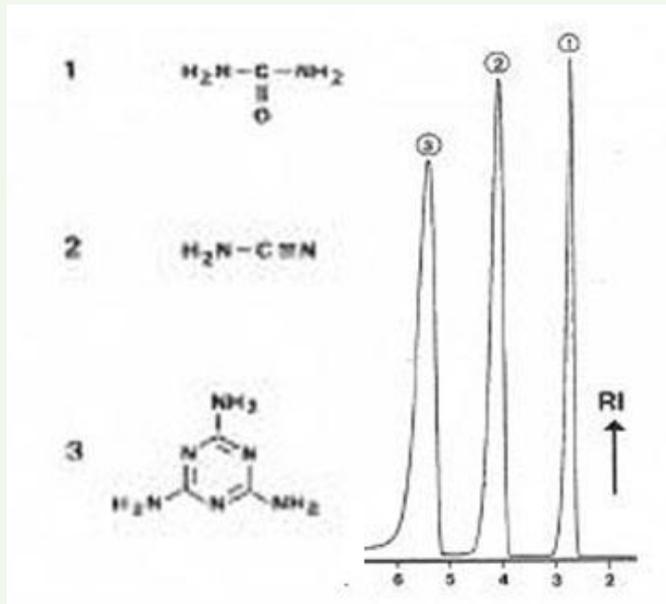
Sephadex LH-20/水分离系统的原理及应用

前几期我们分别讲解了 Sephadex LH-20 在甲醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯等不同流动相下的分离特点，这期我们则主要介绍以水为流动相时的一些分离实例。

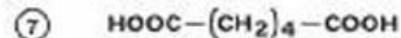
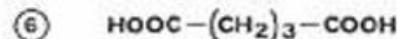
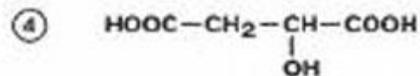
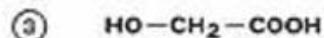
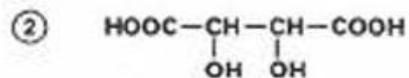
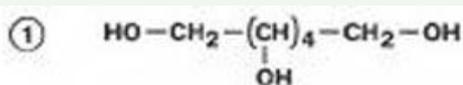
极性的差异和溶解度的轻微变化导致了各种水溶性物质在滞留时间上的不同。大量实例证明，吸附效应决定了 Sephadex LH-20/水分离系统对物质选择性分离的重要特点。被分离的物质通常按分子量由大到小的顺序依次洗脱。

Sephadex LH-20/水分离系统特别适合分离各种无机盐。对于有机盐而言，溶解性的差异并不是分离的主要依据，其洗脱顺序主要由盐中的阴离子决定。

例 1. 根据化合物间的极性差异，分离三种易溶于水的混合物。

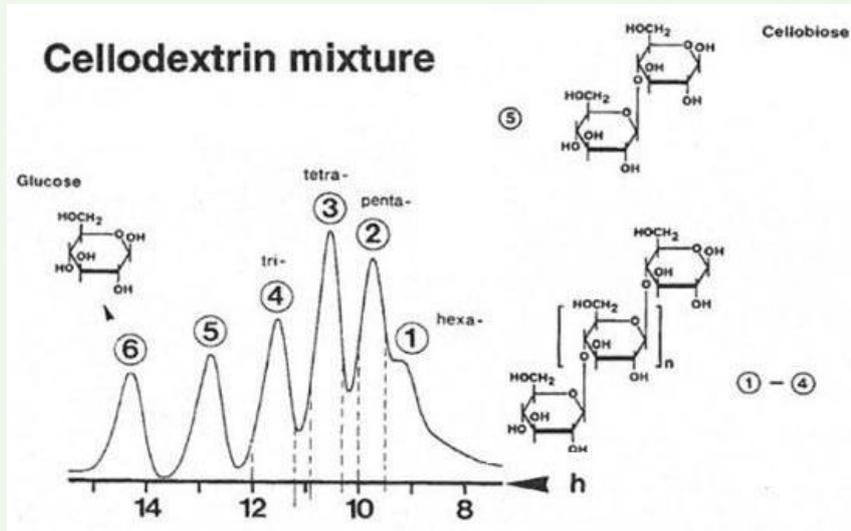


例 2. 多功能团醇类和单/二羧酸类的分离。洗脱顺序如下所示：



2008-5 Volume 7

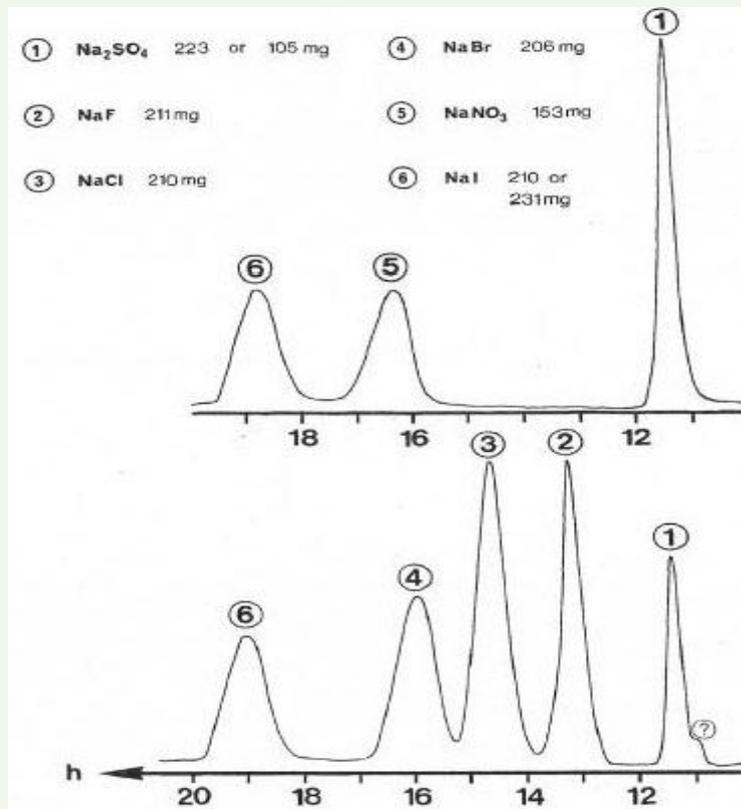
例 3. 纤维糊精混合物的分离，混合物按照分子量由大到小的顺序依次被洗脱。



在使用 HPLC，氨基柱，乙腈/水（65：35）的条件分离纤维糊精时，混合物则按分子量由小到大的顺序依次被洗脱。

例 4. 无机盐的分离。

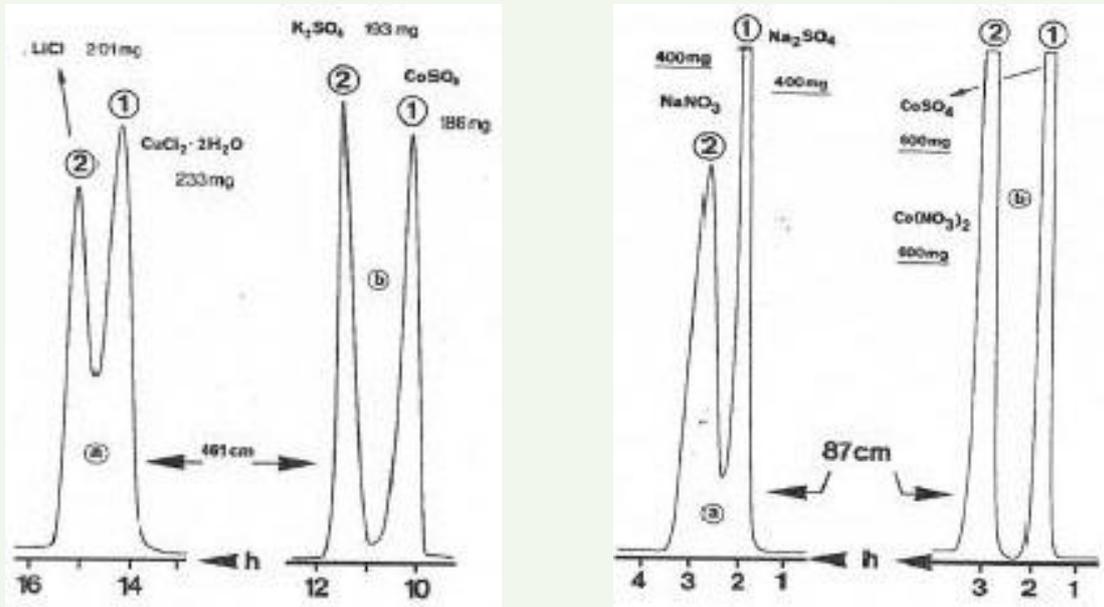
1. 阳离子相同，阴离子不同



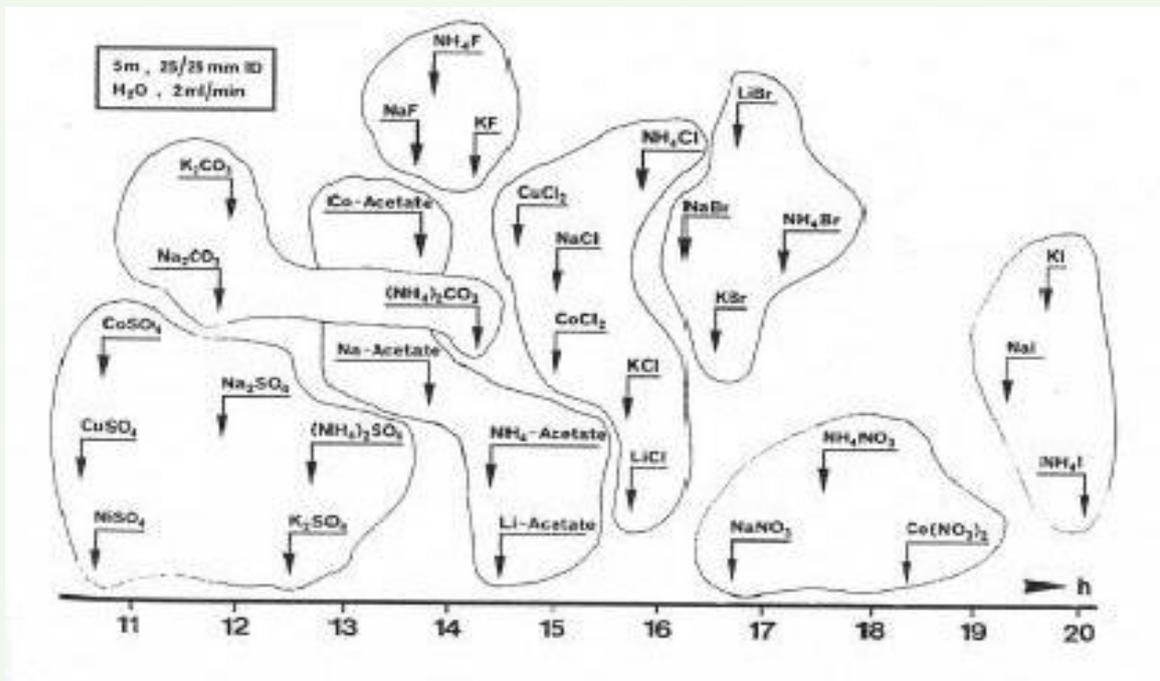
洗脱顺序主要由盐中的阴离子决定，保留时间随阴离子原子半径的增加而延长，F→Cl→Br→I，此原理同样适用于 K，Cu 和铵盐等。

2008-5 Volume 7

2. 阴离子相同，阳离子不同



3. 阴阳离子均不同，可参考下图



Sephadex LH-20/水分离系统的原理及应用今天就先介绍到这里，希望以上内容能对大家有所帮助，如需 Sephadex LH-20 相关原版英文资料者可直接联系本公司。