Sephadex LH-20使用说明

Sephadex LH-20是由葡聚糖G-25羟丙基化加工而成，属于分子筛凝胶，尤其适用于天然产物在有机溶剂中的纯化。例如：类固醇、萜类、脂类以及小分子多肽等，Pharmadex LH-20同时适用于分子类别非常相似的物质的分离和工业规模的制备，既可用于初步纯化步骤，也可用于最终精制步骤，如非对映同分异构体的分离。
制备凝胶悬浮液
Sephadex LH-20在使用之前必须进行溶胀。在溶胀的过程中，要尽量避免过分搅拌，否则会破坏球形胶粒，且要避免使用磁力搅拌器。
1． 在室温下，将凝胶溶胀于层析溶剂中至少三小时，溶胀后胶体积的大小决定于所使用的溶剂系统，请参考后页之干胶溶胀表计算特定柱体积所需要干胶的量。
2． 使溶胀胶体积沉淀之后占总体积的75%，上层溶剂占25%，这时，悬浮液从一个容器倒入另一容器时胶粒可移动。
3． 将溶胀后的凝胶根据装柱要求均匀倒入柱内，在保证胶粒不变形的前提下，应在尽可能高的压力下装柱，反压不要超过1.5ba。
平衡
上样前，用洗脱液平衡层析柱至少两个柱体积直到基线变得平稳为止，如改变溶剂应该注意凝胶在新溶剂中的溶胀性质，并根据性质确定柱高调节器的位置，如使用相同的溶剂，在以后的层析中柱平衡可以省略。
洗脱液
为确保延长层析柱的使用寿命，所有的缓冲液都应该离心或经过0.45um的膜过滤以除去杂质。
样品
样品体积应该占柱总体积的1-2%，同样在使用之前样品应该离心或经过0.45um的膜过滤。
洗脱
洗脱流速应根据情况而定，最大张性流速约12cm/min（反压1.5ba），建议流速为1-10cm/min。总体来说，较低的流速，具有较高的分辩率。
再生
凝胶再生通常是先用2-3个柱体积的洗脱液进行清洗，如更换洗脱液，则需要重新平衡。
体积流速与线性流速的关系
线性流速=体积流速/横截面积
溶胀体积
由于Pharmadex LH-20的溶胀体积依赖于溶剂，所以对于不同直径的柱可根据比例增加或减少旧柱体积以便计算出新体积。
新体积=旧体积×（新柱体积/旧柱体积）
胶的性质
Sephadex LH-20同时具备亲水和亲脂双重性质，且被分离物质的极性在分离过程中起着重要作用。
排阻极限 4-5KD（与所用溶剂有关）
上样量
吸附模式 取决于所需分辩率
分子量大小 小于总体积的20%
正相分配 小于总体积的1%
胶粒形状 球形，多孔
颗粒大小（干） 18-111um（直径）
颗粒大小中间值（干） 70um（直径）
颗粒大小（甲醇） 27-163 um（直径）
颗粒大小中间值（甲醇） 103 um（直径）
pH的稳定性
操作中 2-11
清洗中 2-13
化学稳定性 在许多水溶液及有机溶剂系统中都稳定。在pH2以下或强氧化剂中不稳定
高压灭菌 121℃可忍受20分种
操作温度 4℃到40℃
保存条件
新填料 4-25℃（干燥）
使用后填料 4-8℃，pH6-8，切勿冷冻，加入抑菌剂（如20%乙醇，0.04%叠氮钠）

在下列溶剂中的溶胀情况

water 2.1ml
MeOH 1.9ml
EtOH 1.8ml
CHCl3 1.6ml
n-BuOH 1.6ml
乙酸乙酯 0.4ml
甲苯 0.2ml
丙酮 0.8ml