Gel filtration Chromatography

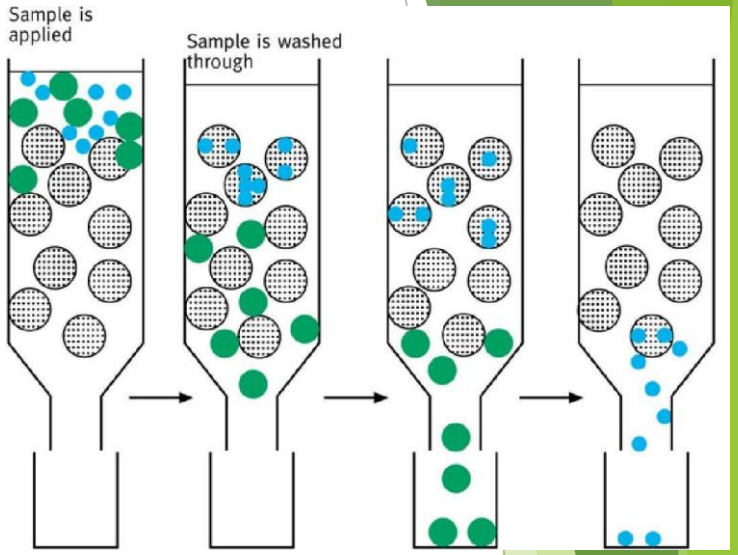
- **層析技術分類:**
  - 吸附層析
  - 非吸附層析
- **凝膠過濾層析(Gel filtration Chromatography)**
  - 利用有一定孔徑範圍的多孔凝膠作為固定相，對混合物中各組分依分子大小進行分離的層析技術
- **離子交換層析(ion-exchange chromatography)**
  - 依據蛋白質在一定的pH條件下，所帶電荷不同而進行的分離方法。
- **親和層析(affinity chromatography)**
  - 利用蛋白質與固定相之間存在某種特異性吸附而進行選擇性分離的技術。

凝膠過濾層析　離子交換層析　親和層析

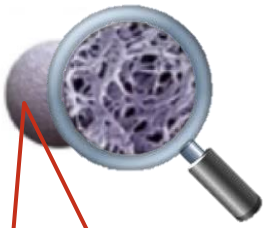
非吸附層析　吸附層析

Gel filtration Chromatography

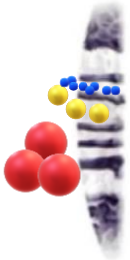
- 凝膠過濾層析(Gel filtration Chromatography)
- 依照分子量大小分離純化
- 大分子先被分離出來，小分子最後被分離出來
- 凝膠顆粒:多孔的網狀結構



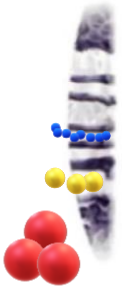
1.填充在管柱裡的球形顆粒



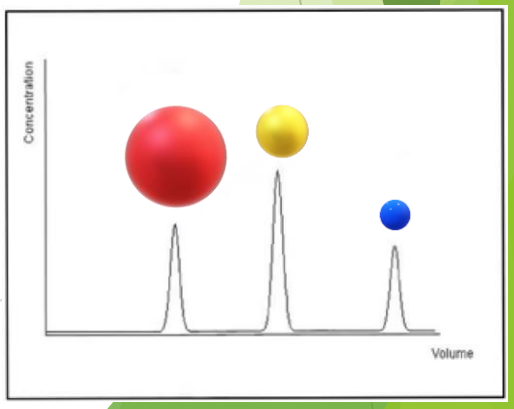
2.待分離樣品



3.流動相和樣品流經管柱，小分子擴散進出顆粒



4.直徑大於凝膠孔徑的大分子直接通過，最先被分離下來，小分子隨後分離下來



https://baike.sogou.com/v66380471.htm

Reagents

1) Egg protein and NaCl mixed solution
2) Ninhydrin reagent
3) Silver nitrate(0.6M $AgNO_3$)
4) Gel

Procedure

將棉花放入管柱底部

↓

充填column(濕填)(gel填滿3~4cm)，並保持膠體濕潤

↓

當蒸餾水降至膠體液面時，再滴加3~5滴的Sample solution(egg protein+NaCl solution)入column中

↓

當sample進入膠體後，再持續用蒸餾水沖提(eluting)並開始收集沖提液(注意!隨時保持膠體濕潤)

↓

共收集沖提液(eluent)16支試管(每支試管個收集10滴的沖提液)如下:

a	Tube1~5	每管各收集10滴	
b	Tube6~8	每管各收集20滴	再從Tube6~8各分一半到Tube(6-1)~(8-1)，此六管各有等量的一半
c	Tube9~13	每管各收集10滴	

Procedure

A. For protein test

Tube 1~8試管中分別加入5滴ninhydrin reagent

↓

MIX

↓

水浴70℃~90℃

↓

觀察記錄

B. For Cl^- test

Tube(6-1)~13試管中分別加入2滴0.1M $AgNO_3$

↓

MIX

↓

觀察記錄

Result

- 請用【+】或【-】紀錄於表上
  - For protein test: 【+】表示藍色至藍紫色； 【-】表示其他顏色
  - For Cl^- test: 【+】表示有白色沉澱； 【-】表示無沉澱

	Gel filtration chromatography							
Ninhydrin (for protein test)	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	Tube 6	Tube 7	Tube 8
$AgNO_3$ (for Cl^- test)	Tube 6-1	Tube 7-1	Tube 8-1	Tube 9	Tube 10	Tube 11	Tube 12	Tube 13