

苯基琼脂糖凝胶 FF 及 HP

一、 简介

疏水相互作用色谱 (Hydrophobic Interaction Chromatography HIC) 原理是在高浓度的盐溶液中, 蛋白质会被吸附到疏水色谱填料的疏水基团上, 当逐渐降低盐浓度时, 它们会按疏水性的强弱先后被洗脱。1. 分离效果好, 成本低。2. 洗脱条件温和, 处理样品量大, 分辨率高。3. 配合其他色谱使用更能发挥它的分离效果。

苯基琼脂糖凝胶 FF 是一种操作简单、实用的疏水色谱填料, 特别适合分离含有高盐的生物大分子的样品, 也包括多肽和核酸病毒等等。同时还可以用于一些天然产物的分离纯化和脱色等。

本产品将我公司自主设计合成的苯基琼脂糖凝胶, 这种疏水层析介质具载量高, 的物理和化学稳定性好, 使用寿命长, 操作方便。良好的批次重复性, 放大容易, 所以无论是研发还是生产都是理想的选择, 完全和进口兼容。

二、 亲和填料特征:

特点	载量大, 分辨率好, 流速高, 使用方便。
基质	6% 的交联琼脂糖凝胶
配基	苯基
配基密度	40 μ mol /ml
吸附载量	40mg HSA/ml
平均粒径	90 μ m, HP 级别的为 34 μ m
最大流速	300cm/h
pH 范围	3-10, 在位清洗时 pH 范围可到 2-11
保存温度	+4~8 $^{\circ}$ C
保存液体	20% 乙醇

三、 适用范围

苯基琼脂糖凝胶 FF 的适用范围广泛, 它适用于蛋白、多肽、核酸病毒等生物大分子的分离纯化, 同时也适用于一些天然产物的分离纯化。

四、 应用实例

实验名称: 苯基琼脂糖凝胶 FF 分离抗体。

实验步骤:

- 1、苯基琼脂糖凝胶 FF 装柱, 1.6 \times 20m, 柱床体积为 5ml
- 2、用**缓冲液 1**平衡 2-5 个床体积, 流速为 2ml/min
- 3、取 200ml 样品加适量固体硫酸铵使终浓度到 0.6M, 中, 用 0.45 μ m 的滤膜过滤, 上样, 流速为 1ml/min

- 4、用**缓冲液 1**再洗 2-5 个床体积，流速为 2ml/min
- 5、最后**缓冲液 2**进行洗脱，流速为 2ml/min，收集洗脱峰，用 SDS-PAGE 纯化后的效果。
- 6、用纯水洗 5 个柱床体积，然后再用 20%的乙醇流洗 3 个柱床体积，流速为 2ml/min，柱子置于+4~8℃环境中保存。
- 7、色谱图见图 1，SDS-PAGE 结果见图 2。

缓冲液组成:

缓冲液 1: 50mM PBS, 0.6M 硫酸铵, pH7.0。

缓冲液 2: 50mM PBS, pH7.0。

SDS-PAGE 流程:

- 1 BCA 法测量样品蛋白浓度
- 2 根据测定样品的蛋白浓度，算出 5-10 μ g/孔所需的体积。
- 3 向 1.5ml EP 管中加入含 5-10 μ g 蛋白的样品溶液，若体积小于 10 μ l，则加 20mM PBS pH7.4 补足 10 μ l；若体积大于 10 μ l，则要加入 1ml 无水乙醇，-20℃下浓缩 1h。
- 4 取浓缩样品 10000rpm 离心 15min，除去上清，37℃烘箱 10min 去除残余的乙醇。
- 5 在样品加入 20mM PBS pH7.4 和 2 \times loading buffer 各 10 μ l，100℃下 10min。取出后用冷却 30s，4000rpm 离心 1s。
- 6 点样，电泳。

实验结果:

(一) 用苯基琼脂糖凝胶纯化抗体

使用色谱填料为苯基琼脂糖凝胶 FF，上样量为 200ml，色谱结果见图 1，纯化结果见 SDS-PAGE 图。

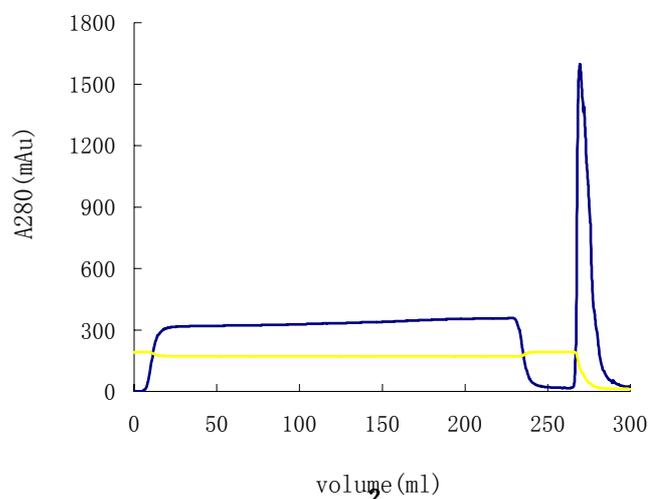


图 1. 苯基琼脂糖凝胶 FF 纯化抗体



图 2. SDS-PAGE 图谱

1: 上样, 2: 穿透, 3: 洗脱

五、 应用的注意事项:

1) 色谱柱装填

- 1、所有需要用到的材料的温度要与色谱操作的温度一样，液体最好做脱气处理。
- 2、在柱子下端加入 20%乙醇，以除去柱子中的空气，关闭柱子出口，在柱内保留少量的 20%乙醇。
- 3、将凝胶连续倒入柱子时，要用玻璃棒的紧靠柱子内壁引流，以减少气泡的产生，让填料先自然沉降。
- 4、在装柱子前，填料从冰箱中取出至少要室温放置 2-3 个小时，这样避免装柱子时由于温度变化而使柱子中产生气泡。

2) 蛋白的结合

通过提高盐浓度可以增加蛋白和填料的结合力，从而达到提高分离效果的目的。常用的盐有硫酸铵，氯化钠，硫酸钠，氯化钾等。

3) 蛋白的洗脱

- 1、如果蛋白的结合力较强，用通常的缓冲不能洗脱，可以在洗脱液体中增加一些有机溶剂，例如乙二醇，甘油，乙醇等。

六、 再生清洗

用纯水洗 5 个柱床体积，然后分别用 0.5MNaOH 含 2M NaCl 洗 5 个床体积，再用水洗 3 个柱床体积，然后再用 70%的乙醇或 30%异丙醇流洗 5 个柱床体积，最后 20%的乙醇流洗 3 个柱床体积。

在应用中，柱子上结合的一些物质如变性蛋白和脂质等不能通过再生过程去除，这种情况下，可以先用 0.5-1%的非离子表面活性剂冲洗 5 个柱床体积，然后再按上面的再生方法用有机溶剂冲洗柱子，这样效果更好。

有机溶剂和水混合很容易产生气泡，为了避免这样情况，可以把配好的有机溶剂在室温放置过夜，再使用，这样可以避免气泡进柱子而导致柱子不能正常使用。

七、保存

在 20%乙醇中，4℃下长期保存。

本产品有严格的生产质量控制标准，我们力求为您提供最满意的产品、最完备的技术支持和服务，欢迎业内朋友交流合作。

除了为您提供各种包装规格的**苯基琼脂糖凝胶 FF**外，我们还提供其它各种填料、柱子和其他服务，包括：

- 1、填料和柱子选择以及预实验
- 2、开发各种生物大分子的分离纯化工艺，为您解决分离纯化的难题
- 3、帮助您合成特殊要求的色谱填料，包括偶联各种配基
- 4、按客户要求提供各种填料及规格的预装柱，并配相应接口用于各种纯化设备。
- 5、代理各种进口填料，为客户提供最专业的售前和售后服务。

产品目录：

产品序列号	产品名称	包装	载量 (IgG)	应用	粒径 μ m	耐压 MPa	最大流速
CS-H01-00	苯基琼脂糖凝胶 FF	1ml 预装柱	20 mg	各种物质	90	0.3	5ml/min
CS-H01-0A	苯基琼脂糖凝胶 FF	5ml 预装柱	100 mg	各种物质	90	0.3	20ml/min
CS-H01-0B	苯基琼脂糖凝胶 FF	20ml 预装柱	200 mg	各种物质	90	0.3	15ml/min
CS-H01-01	苯基琼脂糖凝胶 FF	25ml	20mg/ml	各种物质	90	0.3	300cm/h
CS-H01-02	苯基琼脂糖凝胶 FF	100ml	20mg/ml	各种物质	90	0.3	300cm/h
CS-H01-03	苯基琼脂糖凝胶 FF	500ml	20mg/ml	各种物质	90	0.3	300cm/h
CS-H01-04	苯基琼脂糖凝胶 FF	大包装	20mg/ml	各种物质	90	0.3	300cm/h
CS-H01S-00	苯基琼脂糖凝胶 HP	1ml 预装柱	20 mg	各种物质	34	0.3	3ml/min
CS-H01S-0A	苯基琼脂糖凝胶 HP	5ml 预装柱	100 mg	各种物质	34	0.3	12ml/min
CS-H01S-0B	苯基琼脂糖凝胶 HP	20ml 预装柱	200 mg	各种物质	34	0.3	10ml/min
CS-H01S-01	苯基琼脂糖凝胶 HP	25ml	20mg/ml	各种物质	34	0.3	150cm/h
CS-H01S-02	苯基琼脂糖凝胶 HP	100ml	20mg/ml	各种物质	34	0.3	150cm/h
CS-H01S-03	苯基琼脂糖凝胶 HP	500ml	20mg/ml	各种物质	34	0.3	150cm/h
CS-H01S-04	苯基琼脂糖凝胶 HP	大包装	20mg/ml	各种物质	34	0.3	150cm/h

北京韦氏博慧色谱科技有限公司

电话：010-67804548 13911415318；联系人：韦新桂 E-mail: weixingui@263.net

公司网站： www.wsac.cn 传真：010-67804548

定货请参考光盘中的定货须知。购买本公司产品可获得一张内容非常丰富的纯化光盘，包括表达，提取，分离，酶切等操作指南以及各公司纯化产品的说明书及手册，是生物大分子分离纯化难得的学习材料。