PreCap Benzamidine 4FF

目录

1. 产品介绍.....1
2. 纯化流程.....1
3. 填料清洗.....2
4. 订购信息及相关产品.....2

1. 产品介绍

Benzamidine Beads 4FF 是一种用于纯化胰蛋白酶、尿激酶和激肽释放酶等丝氨酸蛋白酶的介质。苯甲脒类物质是丝氨酸蛋白酶的广谱抑制剂，**Benzamidine Beads 4FF** 是将苯甲脒类物质连接至高度交联的 4%琼脂糖介质上，可以从血清、细胞上清液和菌体裂解液中一步纯化样品。

PreCap Benzamidine 4FF 是一种中低压预装柱，有 1 ml 和 5 ml 两种规格，分别填装 1 ml 和 5 ml **Benzamidine Beads 4FF**，共有 5 种不同包装规格的产品。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中低压色谱系统，如ÄKTA 等，方便客户操作。

表 1. PreCap Benzamidine 4FF 产品性能

项目	性能
基质	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体	4-氨基苯甲脒
载量	>20 mg/ml 介质
粒径范围	45-165 μm
最大流速	0.3 MPa，3 bar
pH 稳定范围	2-8
储存缓冲液	50 mM NaAc，pH4.0，20%乙醇
储存温度	2 - 8℃

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

平衡液：50 mM Tris-HCl，0.5 M NaCl，pH7.4

洗杂液：50 mM Tris-HCl，0.5 M NaCl，pH7.4

洗脱液：10 mM HCl，0.5 M NaCl，pH2.0 或 50 mM 甘氨酸，pH3.0

中和液：1 M Tris，pH8.5

竞争性洗脱液：50 mM Tris-HCl，20 mM 4-氨基苯甲脒，0.5 M NaCl，pH7.4

2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

2.3 样品纯化

PreCap Benzamidine 4FF 是一种用于纯化胰蛋白酶、尿激酶和激肽释放酶等丝氨酸蛋白酶的介质，可以用各种常规的中低压色谱系统，以ÄKTA 仪器使用为例介绍 **PreCap Benzamidine 4FF** 使用方法。

1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中。再折断下口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。
2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。
3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。1 ml 预装柱推荐流速为 1 ml/min，5 ml 预装柱推荐流速为 3 ml/min。
4) 利用泵或样品环上样。

注:样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。

5) 用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积）。
6) 用 5-10 倍柱体积洗脱液洗脱。
7) 使用 3 倍柱体积的平衡液和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料，最后再用 5 倍柱体积的 20%的乙醇平衡，然后保存在 20%的乙醇中，置于 2-8℃，防止填料被细菌污染。

2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 填料清洗

PreCap Benzamidine 4FF 纯化产品可以重复使用而无需再生，但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，这时可按照下面方法对填料进行清洗。

去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法

用 2 倍柱体积的 6 M 盐酸胍或 8 M 尿素溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的去离子水清洗。

去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 2 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的去离子水清洗。

去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2 M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的去离子水清洗。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Benzamidine Beads 4FF	SA044005	5 ml
	SA044025	25 ml
	SA044100	100 ml
	SA044500	500 ml
	SA04401L	1 L
	SA04410L	10 L
PreCap Benzamidine 4FF	SA044C11	1X1 ml
	SA044C51	5x1 ml
	SA044C15	1X5 ml
	SA044C55	5X5 ml
	SA044CS	3X1 ml+1X5 ml