



Butyl-S Beads 6FF

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

Butyl-S Beads 6FF 是一种将丁硫基固定在 6% 交联琼脂糖上的疏水层析介质。**Butyl-S Beads 6FF** 设计用于在相对低盐浓度下结合和洗脱相对强的疏水分子，可用于实验室或工艺规模的各种生物大分子的分离或纯化。具体性能见表 1。

表 1. Butyl-S Beads 6FF 产品性能

性能	指标
基质	6% 交联琼脂糖微球
配体	丁硫基
蛋白载量	30-40 mg BSA/ml 介质
平均粒径	85-95 μm
最大压力	0.3 MPa
流速*	$\geq 400 \text{ cm/h}$
pH 稳定范围	3-13
保存	20% 乙醇, 4-30 $^{\circ}\text{C}$
化学稳定性	所有常用的水性缓冲液、1 M 氢氧化钠、6 M 盐酸胍、30% 异丙醇、70% 乙醇、8 M 尿素、6 M 盐酸胍等

*注: 层析柱 50 $\times$ 500 mm, 柱高 20 cm, 25 $^{\circ}\text{C}$ 去离子水在 0.3 MPa 时的线性流速。

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

Butyl-S Beads 6FF 可以兼容大多数常用的凝胶过滤和离子交换色谱缓冲液，结合缓冲液通常选用高盐浓度的磷酸盐缓冲液，洗脱缓冲液通常选用不含其他盐的磷酸盐缓冲液，后续需要根据实验结果调整缓冲液的盐浓度及类型、pH 等，如果样品较难洗脱，可以适当在纯水中增加一定量的乙醇作为洗脱液。

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。

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 介质装填

Butyl-S Beads 6FF 被广泛应用于工业纯化，因此，涉及到各种中低压色谱层析柱的填装，下面介绍填装层析柱的方法。

- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1-2 cm 的去离子水。
- 2) 将填料悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 3) 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口，开启泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。（注意：在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%）当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。
- 5) 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器，去除储液器，将分配器置于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。
- 8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中，开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。





2.4 样品纯化

填料装填好后, 可以用各种常规的中低压色谱系统。

- 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, 打开下出口, 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储存缓冲液。
- 3) 使用 3-5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。
- 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) 用洗脱液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中, 通常 5 倍柱体积洗脱液就足够了。梯度洗脱可以用一个小的梯度, 例如 20 倍柱体积或更多, 来分离不同结合强度的蛋白质。

2.5 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

每次纯化结束之后都应进行 CIP (Cleaning In Place) 清洗, 以确保结果的一致性。常规 CIP 是为了去除填料上紧密结合的杂质和污染, 例如脂质、沉淀物或变性蛋白等。常规 CIP 可以防止杂质在填料上聚集, 有助于保持填料的载量、流速等性能。一般建议疏水层析填料使用 0.5-1 M 氢氧化钠进行 CIP。

去除一些沉淀或变性物质, 建议使用下面的方法

用 5 倍柱体积的 1 M NaOH 清洗, 接触时间 30-60 min, 再用 3-4 倍柱体积的去离子水清洗, 然后用至少 3 倍柱体积的平衡液进行平衡。

去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 5 倍柱体积 30% 异丙醇或 70% 乙醇清洗, 接触时间为 30-60 min; 再用 3-4 倍柱体积的去离子水清洗, 然后用至少 3 倍柱体积的平衡液进行平衡。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Butyl-S Beads 6FF	SH012005	5 ml
	SH012025	25 ml
	SH012100	100 ml
	SH012500	500 ml
	SH01201L	1 L
	SH01210L	10 L
PreCap Butyl-S 6FF	SH012C11	1×1 ml
	SH012C51	5×1 ml
	SH012C15	1×5 ml
	SH012C55	5×5 ml
HiSelect Butyl-S	SH012C47	4.7ml
HiPur Butyl-S	SH012C20	20ml

