PreCap Butyl 4FF PreCap Octyl 4FF PreCap Phenyl LS 6FF PreCap Phenyl HS 6FF

目录

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

1. 产品介绍

Butyl Beads 4FF、**Octyl Beads 4FF**、**Phenyl Beads 6FF(Low Sub)** 和 **Phenyl Beads 6FF(High Sub)**都属于疏水层析介质（Hydrophobic Interaction Chromatography，简称 HIC），主要通过分子表面疏水性差别进行分离纯化的一类疏水层析介质。广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质和多肽的分离纯化。本产品均可耐受较高的流速及更高的化学稳定性，适合实验室及工业大规模纯化。

HICap HIC 是一种中压预装柱，有 1 ml 和 5 ml 两种规格的预装柱，分别填装 1 ml 和 5 ml **Butyl Beads 4FF**、**Octyl Beads 4FF**、**Phenyl Beads 6FF(Low Sub)**和 **Phenyl Beads 6FF(High Sub)**，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。

Butyl Beads 4FF

Butyl Beads 4FF 属于脂肪族疏水作用介质，配基通过不带电和化学性质十分稳定的醚键连接到琼脂糖微球上，具体性能见表 1。

表 1.PreCap Butyl 4FF 产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体密度	丁基
载量	约 7 mg IgG/ml 介质；＞26 mg BSA/ml 介质
粒径	45-165 μm
建议流速	300 cm/h
pH 稳定范围	3-13
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1XPBS
储存温度	2-8℃

Octyl Beads 4FF

Octyl Beads 4FF 属于脂肪族疏水作用介质，配基通过不带电和化学性质十分稳定的醚键连接到琼脂糖微球上，具体性能见表 2。

表 2. **PreCap Octyl 4FF** 产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体	辛基
载量	约 26 mg IgG/ml 介质；＞7 mg BSA/ml 介质
粒径	45-165 μm
建议流速	300 cm/h
pH 稳定范围	3-13
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1XPBS
储存温度	2-8℃

Phenyl Beads 6FF(Low Sub) 和 Phenyl Beads 6FF(High Sub)

Phenyl Beads 6FF(Low Sub) 和 **Phenyl Beads 6FF(High Sub)**分别是低取代的芳香族疏水层析介质和高取代的芳香族疏水层析介质，其中苯基通过不带电、化学性质稳定的醚键连接至高度交联的 6%琼脂糖微球上。可根据不同物质的分离要求、分离效率和结合载量不同来选择高取代或低取代的苯基疏水层析介质，具体性能见表 3。

表 3.PreCap Phenyl LS 6FF 和 PreCap Phenyl HS 6FF 产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
配体	苯基
载量	Low Sub :约 10 mg IgG/ml 介质 、＞24 mg BSA/ml 介质
	High Sub :约 30 mg IgG/ml 介质 、＞36 mg BSA/ml 介质
粒径	45-165 μm
建议流速	300-600 cm/h
pH 稳定范围	3-13
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1XPBS
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/洗杂液：0.05 M 磷酸盐，1.7 M 硫酸铵，pH7.0
洗脱液：0.05 M 磷酸盐，pH7.0
注：疏水层析介质缓冲液可根据不同介质及纯化物质不同做适当改变，原则上高盐上样低盐洗脱。

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。
样品中盐浓度跟平衡液相同，通常为 0.5-2.0 M 硫酸铵。

2.3 样品纯化

PreCap HIC 是一种疏水层析介质的预装柱产品，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 HIC** 的使用方法。
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 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。
7）依次使用 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

疏水层析填料每次使用后可以用分别用 2-3 倍柱体积的 30%异丙醇、3 倍去离子水清洗，然后用至少 3 倍柱体积的 Buffer 进行平衡。
CIP（Cleaning-In-Place）清洗
疏水层析填料可以重复使用，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 CIP 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 1 M NaOH 溶液进行清洗(至少浸泡 4 h)，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 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 3-4 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 的 0.1 M 醋酸盐清洗（至少 1-2 h），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 Beads 4FF	SH001025	25 ml
	SH001100	100 ml
	SH001500	500 ml
	SH00101L	1 L
Octyl Beads 4FF	SH003025	25 ml
	SH003100	100 ml
	SH003500	500 ml
	SH00301L	1 L
Phenyl Beads 6FF (Low Sub)	SH004025	25 ml
	SH004100	100 ml
	SH004500	500 ml
	SH00401L	1 L
Phenyl Beads 6FF (High Sub)	SH006025	25 ml
	SH006100	100 ml
	SH006500	500 ml
	SH00601L	1 L
PreCap Butyl 4FF	SH001C11	1X1 ml
	SH001C51	5X1 ml
	SH001C15	1X5 ml
	SH001C55	5X5 ml
PreCap Octyl 4FF	SH003C11	1X1 ml
	SH003C51	5X1 ml
	SH003C15	1X5 ml
	SH003C55	5X5 ml
PreCap Phenyl LS 6FF	SH004C11	1X1 ml
	SH004C51	5X1 ml
	SH004C15	1X5 ml
	SH004C55	5X5 ml
PreCap Phenyl HS 6FF	SH006C11	1X1 ml
	SH006C51	5X1 ml
	SH006C15	1X5 ml
	SH006C55	5X5 ml
PreCap Select	SH009CS	4X1 ml