



高速疏水层析介质（FF）预装柱 Butyl, Octyl, Phenyl LS, Phenyl HS FF Columns

名称	货号	规格
高速疏水层析介质（Butyl-4FF）预装柱	BDTL0040-11	1×1ml
	BDTL0040-51	5×1ml
	BDTL0040-15	1×5ml
	BDTL0040-55	5×5ml
高速疏水层析介质（Octyl-4FF）预装柱	BDTL0041-11	1×1ml
	BDTL0041-51	5×1ml
	BDTL0041-15	1×5ml
	BDTL0041-55	5×5ml
高速疏水层析介质（Phenyl LS-6FF）预装柱	BDTL0042-11	1×1ml
	BDTL0042-51	5×1ml
	BDTL0042-15	1×5ml
	BDTL0042-55	5×5ml
高速疏水层析介质（Phenyl HS-6FF）预装柱	BDTL0043-11	1×1ml
	BDTL0043-51	5×1ml
	BDTL0043-15	1×5ml
	BDTL0043-55	5×5ml

1. 产品介绍

Butyl-4FF、Octyl-4FF、Phenyl LS-6FF 和 Phenyl HS-6FF 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。

表 1. 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(ml 介质)	约 7mg IgG; 26mg HAS
粒径 (µm)	45-165
流速	300
pH 稳定范围	3-13
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	2-8°C

Butyl-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。

Octyl-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. 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(/ml 介质)	约 26mg IgG; 7mg HAS
粒径 (μm)	45-165
流速	300cm/h
pH 稳定范围	3-13
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	2-8°C

Phenyl LS-6FF, Phenyl HS-6FF

Phenyl LS-6FF(Low Sub) 和 Phenyl HS-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. Phenyl LS-6FF 和 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(/ml 介质)	Low Sub :约 10mg IgG 、 24mg HAS High Sub :约 30mg IgG 、 36mg HAS
粒径 (μm)	45-165
流速	300-600cm/h
pH 稳定范围	3-13

储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	2-8°C

高速疏水层析介质 (FF) 预装柱是一种中压预装柱, 有 1ml 和 5ml 两种规格的预装柱, 分别填装 1ml 和 5ml Butyl-4FF、Octyl-4FF、Phenyl LS-6FF 和 Phenyl HS-6FF, 共有 4 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压色谱系统, 如 ÄKTA 等, 方便客户操作。

2. 纯化流程

2.1 Buffer 的准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

结合液: 0.05M 磷酸盐, 1.7M 硫酸铵, pH7.0

洗脱液: 0.05M 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, 原则上市高盐上样低盐洗脱。

2.2 样品准备

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

样品中盐浓度跟结合液相同, 通常为 0.5-2.0M 硫酸铵。

2.3 样品纯化

本预装柱产品, 可以用各种常规的中压色谱系统, 以 ÄKTA 仪器使用为例介绍使用方法。

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 倍柱床体积的结合 Buffer 平衡色谱柱。1ml 预装柱推荐流速为 1ml/min, 5ml 预装柱推荐流速为 5ml/min。
4. 利用泵或注射器上样。

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 Buffer 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 Buffer 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。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。

2.4 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. 层析介质清洗

疏水层析层析介质每次使用后可以分别用 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

疏水层析层析介质可以重复使用，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层析介质进行 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 1M NaOH 溶液进行清洗(至少浸泡 4 小时)，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 0.1M 醋酸盐清洗(至少 1-2 小时)，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。