



HiSelect Phenyl HF HS

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

Phenyl Beads HF (High Sub) 是一款高取代的芳香族疏水层析介质。苯基通过不带电、化学性质稳定的醚键连接至高流速的琼脂糖微球上,通过分子表面疏水性差别对样品进行分离纯化。高刚性的琼脂糖微球较传统工艺可以耐受更高的流速并提供更高的化学稳定性,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。具体性能见表 1。

HiSelect Phenyl HF HS 是一种中压预装柱, 填充 4.7 ml 的 **Phenyl Beads HF (High Sub)** 介质。柱管由生物相容性聚丙烯制成, 不与生物分子相互作用。柱管两头都有堵头, 防止保护液的泄露。柱体标签上的箭头表示推荐的流向。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。

表 1. HiSelect Phenyl HF HS 产品性能

| 性能 | 指标 |
|-------------|------------------|
| 基质 | 高刚性琼脂糖微球 |
| 配体 | 苯基 |
| 载量 | ≥36 mg BSA/ml 介质 |
| 微球粒径 | 85-95 μm |
| 建议流速 | ≤600 cm/h |
| pH 稳定范围 | 3-13 |
| 储存缓冲液 | 20%乙醇 (2%苯甲醇可选) |
| 储存温度 | 2-8 °C |
| 柱尺寸 (内径×高度) | 0.77×10 cm |

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 样品纯化流程

HiSelect Phenyl HF HS 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。

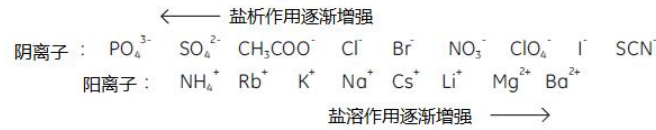
- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子, 将层析柱连接至色谱系统中。再打开下口, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。
- 2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液。
- 3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。
- 4) 利用泵或样品环上样。注: 样品的粘度增加使得即使上样体积很少, 也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压, 使得进样器更难使用。
- 5) 用洗杂液冲洗柱子, 直到紫外吸收达到一个稳定的基线 (一般至少 10-15 个柱体积)。
- 6) 用洗脱液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中, 通常 5 倍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。

上述步骤介质洗脱结束后, 先用平衡液冲洗 3 倍柱体积, 然后用纯水冲洗 5 倍柱体积, 再用储存缓冲液冲洗 2 个柱体积, 然后将介质置于 2-8 °C 保存。





注: 疏水作用随着温度的降低而降低。可采用非极性有机溶剂如 40-50%乙二醇、30%异丙醇或 1%去污剂 (Triton™ X-100) 洗脱。不同离子有盐溶与盐析作用强弱不同, 如下图



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 倍柱体积的平衡液进行平衡。

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 |
|-----------------------|----------|----------|
| HiSelect Phenyl HF HS | SH015C47 | 1×4.7 ml |
| HiPur Phenyl HF HS | SH015C20 | 1×20 ml |

