



# HiPur Blue 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

**Blue Beads 6FF** 是一种用于纯化白蛋白、干扰素、需要核苷酸辅助的酶、 $\alpha$ 2-巨球蛋白凝血因子等的亲和层析介质。**Blue Beads 6FF** 以高交联的 6%琼脂糖为介质，可耐受较高的流速及更高的化学稳定性，适合大规模纯化。具体性能见表 1。

**HiPur Blue 6FF** 是一种中压预装柱，填充 20 ml 的 **Blue Beads 6FF** 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. HiPur Blue 6FF 产品性能

性能	指标
规格	20 ml
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
配体	活性蓝 3G
配体密度	约 7 $\mu$ mol/ml 介质
载量	> 18 mg 牛血清白蛋白/ml 介质
粒径范围	45-165 $\mu$ m
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	4-12
柱尺寸 (内径×高度)	1.6×10 cm
储存缓冲液	0.1 M $K_3PO_4$ , 20%乙醇
储存温度	2-8 °C

## 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  $\mu$ m 或 0.45  $\mu$ m 滤膜过滤。

以人血清白蛋白 (HSA) 的纯化为例

**平衡/洗杂液:** 50 mM  $Na_2HPO_4$ , 50 mM 柠檬酸钠, pH 7.0

**洗脱液:** 50 mM  $Na_2HPO_4$ , 50 mM 柠檬酸钠, 1-2 M NaCl, pH 7.0

**注:** 平衡/洗杂液和洗脱液可根据样品性质进行适当改变，原则是低盐上样高盐洗脱。

### 2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22  $\mu$ m 或 0.45  $\mu$ m 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

**HiPur Blue 6FF** 是一种用于纯化白蛋白、干扰素、需要核苷酸辅助的酶、 $\alpha$ 2-巨球蛋白凝血因子等的亲和预装柱产品，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 **HiPur Blue 6FF** 使用方法。

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上堵头，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。
- 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) 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 倍柱体积的保护液平衡，然后将预装柱置于 2-8℃保存，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

**HiPur Blue 6FF** 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 3-4 倍柱体积的 0.1 M NaOH，然后用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 2 M 硫氰酸钾溶液清洗，然后立即用 5 倍柱体积的结合液平衡。

**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 30%的异丙醇或 1% Triton™ X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的结合液平衡。

### 4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
HiPur Blue 6FF	SA027C20	1×20 ml
HiSelect Blue 6FF	SA027C47	1×4.7 ml