



HiSelect Benzamidine 4FF

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

Benzamidine Beads 4FF 是一种用于纯化胰蛋白酶、尿激酶和激肽释放酶等丝氨酸蛋白酶的介质。苯甲脒类物质是丝氨酸蛋白酶的广谱抑制剂，**Benzamidine Beads 4FF** 是将苯甲脒类物质连接至高度交联的 4%琼脂糖介质上，可以从血清、细胞上清液和菌体裂解液中一步纯化样品。

HiSelect Benzamidine 4FF 是一种中压预装柱，填充 4.7 ml 的 **Benzamidine Beads 4FF** 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 Benzamidine 4FF 产品性能

项目	性能
规格	4.7 ml
基质	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体	4-氨基苯甲脒
载量	>20 mg/ml 介质
粒径范围	45-165 μ m
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	2-8
柱尺寸 (内径×高度)	0.77×10 cm
储存缓冲液	50 mM NaAc, pH 4.0, 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 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

平衡液: 50 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, pH7.4

洗杂液: 50 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, pH7.4

洗脱液: 10 mM HCl, 0.5 M NaCl, pH 2.0 或 50 mM 甘氨酸, pH3.0

中和液: 1 M Tris, pH8.5

竞争性洗脱液: 50 mM Tris-HCl, 20 mM 4-氨基苯甲脒, 0.5 M NaCl, pH7.4

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。

2.3 样品纯化

HiSelect Benzamidine 4FF 是一种用于纯化胰蛋白酶、尿激酶和激肽释放酶等丝氨酸蛋白酶的介质，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 **HiSelect Benzamidine 4FF** 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) 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

HiSelect Benzamidine 4FF 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 2 倍柱体积的 6 M 盐酸胍或 8 M 尿素溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的去离子水清洗。

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 2 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的去离子水清洗。

去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2 M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的去离子水清洗。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
HiSelect Benzamidine 4FF	SA044C47	1×4.7 ml
HiPur Benzamidine 4FF	SA044C20	1×20 ml