

丁基-琼脂糖凝胶 4FF

丁基-琼脂糖凝胶 4FF 是将苯基键合在琼脂糖凝胶 4FF 上形成的一种可利用疏水相互作用来实现目标产品纯化分离的疏水类介质。用于生物大分子和乙肝疫苗的纯化分离。

1 外观

本品为白色球状凝胶，无嗅、无味、无肉眼可见杂质。

2 理化指标

项 目	指 标
配基	丁基
基质	4% 交联琼脂糖凝胶
形状	球形
粒径	45~165 μm
配基密度	40 $\mu\text{mol/ml}$ 介质
最高流速(25 $^{\circ}\text{C}$)	100KPa 下 200 cm/h*
耐压	0.2 MPa
工作温度	4~40 $^{\circ}\text{C}$
pH 适用范围	2~14 (短时间 , 在位清洗); 3~13 (长时间)
化学稳定性	以下溶液中稳定: pH3~12.5 中稳定; 0.1% triton 水溶液和 1%MOPS 溶液中稳定; 5%甲醛中基本稳定

*柱子：内径 16mm、柱长 10cm，柱床高 5cm，25 $^{\circ}\text{C}$ ，流动相为 0.1mol/LNaCl。

3 包装

产品以无菌试剂瓶密封包装，外贴标签，注明“品名、体积、颗粒大小、应用、生产单位”等内容。所选用的包装应有利于保证产品质量、方便运输和贮存。

4 运输

运输中应避免日晒、雨淋、重压，严禁与有毒、有害物品混运。

5 贮存

产品应密封贮存在 4℃~30℃（保存溶液为 20% 乙醇+0.1M 醋酸钠），通风、干燥、清洁的地方。不能冷冻。

用过的柱子贮存在 4℃（20% 乙醇）。

6 保质期：

5 年。

7 应用

丁基-琼脂糖凝胶 4FF 是一种疏水层析介质，利用样品中组分疏水性的不同进行分离。用于生物大分子的纯化分离。

下面简要介绍介质的使用过程。

7.1 装柱

(1) 让所有的材料和试剂达到室温。配制初始缓冲液（平衡液）和洗脱缓冲液。

(2) 根据柱子大小取所需量的凝胶，清洗掉 20%乙醇，抽干，用初始缓冲液（按凝胶：缓冲液=3：1 的比例）配成匀浆。

(3) 将柱内及柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位（液面略高于滤膜），务必使底端无气泡。

(4) 用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内，注意勿使产生气泡。打开柱子出液口，使凝胶在柱内自由沉降，连结好柱子顶端柱头。

(5) 打开蠕动泵，让缓冲液用使用时流速的 1.33 倍的流速流过，使柱床稳定。用 2~3 倍柱体积的缓冲液平衡柱子。

7.2 平衡

让平衡缓冲液以一定流速流过柱子，到流出液电导和 pH 不变。平衡缓冲液一般是高盐浓度的缓冲液，如 0.02~0.05mol/L 的 PBS 加 1~2.5mol/L(NH₄)₂SO₄ 等。

7.3 上样

(1) 样品用平衡液配制，浑浊的样品要离心和过滤后上样。

(2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上，用平衡液洗去杂质，再选择一种洗脱液洗下目标产品。

(3) 介质对样品组分吸附的程度取决于样品的疏水性质、流动相的离子强度和温度。盐浓度大、温度高或样品组分疏水性强，介质对组分吸附牢。

7.4 洗脱

疏水介质可用减小盐浓度进行洗脱。加表面活性剂或有机溶剂可加强洗脱。最常用的洗脱液是低盐浓度缓冲液，如 0.02~0.05mol/L 的 PBS。

7.5 再生

一般用低盐浓度的缓冲液洗，洗 10 倍以上柱体积，接着用结合蛋白的平衡液洗到平衡，可再次使用。

若有失活蛋白质或脂类物质在再生时洗不掉，可用在位清洗（CIP）除去。

7.6 在位清洗

(1) 对于以离子键结合上去的蛋白，可以用 2M NaCl 去除。

(2) 对沉淀蛋白、对以疏水性结合的蛋白或脂类，可用 1M NaOH 去除。

(3) 对强疏水性结合的蛋白、脂类等，用 4~10 倍柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗，但要注意有机溶剂的浓度以梯度的方式逐渐增加，否则容易产生气泡。

清洗完毕后，用至少 3 倍缓冲液平衡柱子。

7.7 注意

在装柱、使用和保存柱子的时候，要避免柱子流干，气泡进入。

7.8 去热源

用 0.5M 的氢氧化钠清洗柱子 5~6 小时或用 0.1M 的氢氧化钠 24 小时。或用以下方法步骤去除：

(1) 2 倍柱体积的 70%乙醇；

(2) 2 倍柱体积 50mM Tris-HCl pH7.5；

(3) 1 倍柱体积 4M 尿素；

(4) 3 倍柱体积的 Tris 缓冲液+0.1M NaCl；

上缓冲液都在无热源的双蒸水中配制。

7.9 消毒 用 0.5~1M NaOH 室温下洗 8~10 倍柱体积，初始缓冲液平衡柱子。

特别注意：

上样之前，样品必须去除色素，否则色素会被吸附到填料上，影响填料的正常使用。