

SP Sepharose 6FF 重力柱说明书

货号：AC17652

规格：1*1mL / 1*5mL / 5*1mL / 3*1mL+1*5mL / 5*5mL

保存：2-8°C

产品说明：

SP Sepharose 6FF 是一种强阳离子交换树脂，离子交换基团-O-CH₂CH₂CH₂SO₃⁻，本产品以高交联的6%琼脂糖为介质，可耐受较高的流速及更高的化学稳定性，适合实验室及工业大规模纯化。离子交换树脂广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的分离纯化。

表 1：介质性能参数

基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
离子交换类型	强阳离子
离子载量	约 0.18-0.25mmol H ⁺ /ml 介质
粒径 (μm)	45-165
建议流速	400-700cm/h
pH 稳定范围	4-13
储存缓冲液	20% 乙醇

纯化流程：

1、Buffer 的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22μm 或 0.45μm 滤膜过滤。

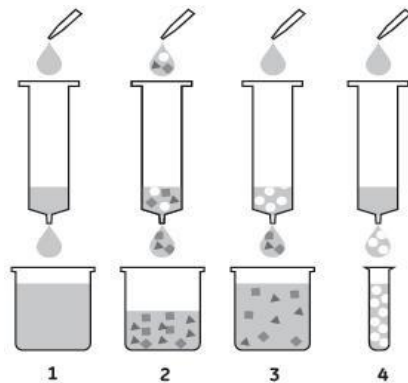
所使用的平衡液和洗脱液，根据不同离子交换填料自行选择基。本原则是低盐上样，高盐洗脱。

2、样品准备

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

3、样品纯化

SP Sepharose 6FF 重力柱使用请参考以下说明，各溶液用量均按照柱体积计算（柱体积是指填料的体积）。使用流程请参考下图。



Step 1: 柱子平衡；Step 2: 上样；Step 3: 洗杂；Step 4: 洗脱

1) 水洗: 将 SP Sepharose 6FF 重力柱固定在铁架台上，依次去掉上端塞和下端塞，使液体流出。

当柱内剩余液面略高于上筛板，用 5 个柱体积的去离子水清洗填料，去除保护液。

2) 平衡：当液面略高于上筛板，向柱管中加入至少 5 个柱体积的平衡液，进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下，起到保护蛋白的作用。

3) 上样：将样品加到平衡好的重力柱中，样品保留时间至少 2min，保证目的蛋白与介质充分接触，提高目的蛋白的回收率。收集流出液，用于 SDS-PAGE 分析蛋白质的结合情况，在出现问题时，更方便寻找解决问题的方案。

4) 洗杂：用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。

5) 洗脱：采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5-10 倍柱体积洗脱液就足够了。梯度洗脱可以选用 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。

6) 水洗：用 2-3 倍柱体积的 1M NaCl 溶液甚至更高离子强度溶液或高 pH 溶液清洗，然后用 5-10 倍柱体积的去离子水冲洗填料，最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20% 的乙醇中，置于 4℃ 保存，防止填料被细菌污染。

4、SDS-PAGE 检测

将纯化过程中收集的样品（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。

5、填料清洗

离子交换树脂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树脂进行清洗。

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 1M NaOH 溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 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 3-4 倍柱体积的 1% Triton X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

备注：备注：20% 乙醇可以防止微生物的生长，20% 乙醇保存的介质储存在 2-8℃。

常见问题

问题	原因分析	原因分析 推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	进行树脂清洗
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜 (0.22 或 0.45 μm) 过滤，或者离心去除。
洗脱样品较杂	树脂重复多次使用	进行树脂清洗或更换新树脂
	洗杂不充分	增加洗杂液体积，确保树脂充分平衡 / 洗杂
	样品带电性能相似	优化洗脱条件