



Blue Agarose Beads 6FF

货号: QS01036

目录

1. 产品简介	1
2. 纯化流程	1
3. 填料清洗	3
4. 存储条件	3
5. 订购信息及相关产品	4

1. 产品简介

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

表1. **Blue Agarose Beads 6FF** 产品性能

基质	高度交联的6%琼脂糖微球
配体	活性蓝 3G
载量	> 18 mg 牛血清白蛋白/ml 填料
粒径范围	45-165 μm
最大耐压	0.3 MPa, 3 bar
储存缓冲液	0.1 M KH_2PO_4 , 20%乙醇, pH8.0
储存温度	4 - 8 $^{\circ}\text{C}$

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 μm 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, pH7.0

洗脱液: 50 mM Na_2HPO_4 , 50 mM 柠檬酸钠, 1-2 M NaCl, pH7.0

注: 结合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。



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。

2.2 Blue Agarose Beads 6FF装填

重力柱的装填

- 1) 取合适规格的重力层析柱，装入下垫片，加入适量纯水润洗柱管和垫片，关闭下出口。
- 2) 将Blue Agarose Beads 6FF混合均匀，用枪头吸取适量浆液加入至重力柱中（填料实际体积占悬液的一半），打开下出口流干保护液。
- 3) 加入适量纯水冲洗填料，待柱管中液体重力流干后，关闭下出口。
- 4) 装入润洗后的上垫片，确保垫片与填料之前没有空隙，且保持水平。
- 5) 装填好的重力柱可以直接加入平衡液进行平衡，暂不使用时则加入保护液，2-8℃保存。

2.3 样品纯化

孵育法纯化

- 1) 根据纯化的样品量，取适量 Blue Agarose Beads 6FF加入离心管中，1500 rpm 离心1分钟，吸弃上清；也可加入重力柱中，流干保护液。
- 2) 向离心管中加入 5 倍填料体积的平衡液清洗填料，1500 rpm 离心1分钟，吸弃上清；如使用重力柱，则直接在重力柱中清洗，直接重力流干平衡液；重复两次以上。
- 3) 加入样品，封闭离心管或重力柱管，4℃振荡孵育 2-4 小时 或者 37℃孵育 0.5-2 小时。
- 4) 孵育结束后，1500 rpm 离心 1 分钟，吸弃上清，或过滤收集填料，上清保留作为流穿，用于电泳鉴定。
- 5) 用5 倍填料体积的洗杂液清洗填料，1500 rpm 离心1分钟或重力柱管过滤，去除上清（注意不要吸到填料），重复 3-5 次，中间建议更换新离心管。
- 6) 加入 3-5 倍柱体积的洗脱液进行洗脱，室温孵育 5分钟，1500 rpm 离心 1 分钟或重力柱管收集洗脱液，可重复 2-3 次。

重力柱法纯化

- 1) 将装填好的 Blue Agarose Beads 6FF重力柱用 5 倍柱体积平衡液进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲液体系下，重复 2-3 次。
- 2) 将样品加到平衡好的重力柱中，样品保留时间至少 2 min，保证样品和填料充分接触，收集流出液，可以反复上样增加结合效率。
- 3) 用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行洗杂，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。



4) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱, 分段收集, 每一个柱体积收集一管, 分别检测, 既可以保证所有结合的目的蛋白被洗脱, 又可以得到高纯度和高浓度的蛋白。

中压层析柱法纯化

Blue Agarose Beads 6FF装填好后, 可以用各种常规的中低压色谱系统。

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, 打开下出口, 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) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱, 收集洗脱液, 即目的蛋白组分。

填料洗脱结束后, 用平衡液冲洗 5-10 柱体积, 然后用纯水冲洗 5-10 个柱体积, 再用 20%乙醇冲洗 2 个柱体积, 置于 2-8°C 保存。

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

Blue Agarose Beads 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. 存储条件



如需较长时间储存，例如数周，我们建议将该介质4-8℃储存于20%乙醇（0.1M KH₂PO₄, pH 8.0）里面。

5. 订购信息及相关产品

产品	货号
Blue Agarose Beads 6FF	QS01036
Blue Agarose Beads 6FF 预装柱	QS01090
Blue Agarose Beads 6FF预装重力柱	QS01091