

## Phenyl Agarose FF(LS)

### Phenyl(LS)强疏水层析介质

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
	20482ES25	25 mL
Phenyl Agarose FF(LS) Phenyl(LS)强疏水层析介质	20482ES60	100 mL
	20482ES76	500 mL

#### 产品描述

疏水作用层析 (hydrophobic interaction chromatography, HIC) 是利用生物分子所带有的疏水基团和固定相上的疏水配基之间的相互作用来分离物质的一种层析方法, 盐离子可以破坏生物分子表面的水化膜, 促进疏水基团和配基之间的结合。

本品 Phenyl Agarose FF(LS) 是一种高取代的芳香族疏水层析介质, 它是在 6% 的琼脂糖基架上偶联苯基而成的, 结合载量相对 Phenyl Agarose FF(HS) 较低, 配基疏水性强, 适合疏水性较弱的生物分子的分离纯化。

#### 产品性质

基质	6% 的高度交联的琼脂糖
粒径	45-165 $\mu\text{m}$
功能基团	苯基
载量	10 mg IgG 或 24 mg HSA/mL
建议流速	300-600 cm/h
pH 范围	3-13
储存缓冲液	20% 乙醇

#### 运输和保存方法

冰袋运输。4-30°C 保存, 有效期 4 年。

#### 注意事项

- 1) 请勿冷冻保存本产品。
- 2) 填料使用前一定要充分颠倒若干次, 使琼脂糖珠混合均匀。
- 3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 4) 本产品仅作科研用途!

#### 使用方法

##### 1 缓冲液的准备

- 1) 所用水和 Buffer 在使用前最好用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。
- 2) 结合缓冲液通常选用含有高浓度盐的磷酸盐缓冲液, 如 20 mM PB, 1.5 M  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , pH7.0。
- 3) 洗脱缓冲液通常选用不含其他盐类的磷酸盐缓冲液, 如 50 mM PB, pH7.0, 对于较难洗脱的物质可以采用纯水, 或者在纯水中加入低浓度乙醇作为洗脱液。

注: 需要根据后续的实验结果 (目的物是否有沉淀、目的物的结合强弱、回收率、分离度等) 对结合缓冲液中的盐的浓度和类型进行调整。

##### 2 样品准备

样品在使用前最好用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。需要将样品的 pH 和电导率调整到与结合缓冲液一致。

### 3 样品纯化

- 1) 将介质装入合适的层析柱，用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液，然后用 5 倍柱体积的结合 Buffer 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。
- 2) 将样品加到平衡好的 Phenyl Agarose FF(LS) 中，收集流出液。
- 3) 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗，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 Buffer，收集洗脱液，即目的蛋白组分。
- 5) 依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 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 20% 的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20% 的乙醇中，置于 4 度保存，防止填料被细菌污染。

### 4 填料清洗

疏水层析填料每次使用后可以分别用 2-3 倍柱体积的 30% 异丙醇（70% 乙醇）、3 倍柱体积的纯化水冲洗层析柱，然后用至少 3 倍柱体积的平衡液进行平衡。

#### CIP (Cleaning In Place) 清洗

疏水层析填料可以重复使用，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。

- 1) 先用 2 个柱体积的纯化水冲洗掉结合比较紧的蛋白。
- 2) 对于强疏水性蛋白、沉淀蛋白的去除：先用 2~3 个柱体积 1 M NaOH 清洗，然后立即用 5~10 个柱体积纯水冲洗。
- 3) 脂蛋白和脂类物质的去除：先用 5~10 个柱体积的 70% 乙醇或 30% 异丙醇清洗，后用 5~10 个柱体积纯水冲洗。
- 4) 也可将上述两种清洗条件结合进行清洗，即用含有 1 M NaOH 的 30% 异丙醇溶液清洗。