# Butyl 6HP 使用说明书

为确保产品的性能和无忧的操作，使用前请仔细阅读本手册，有任何疑问请咨询本公司售后技术支持或销售人员。

## 1. 产品介绍

Butyl 6HP 偶联的疏水性配基在高离子强度条件下（高离子强度会增加配基和疏水性基团的相互作用）可以与蛋白质或抗体表面的一些疏水性基团进行相互作用，从而达到分离纯化的目的。Butyl S-6FF 主要用于中度纯化和精细纯化。

a. 快速、简单（一步纯化）。
b. 与反相层析相比，疏水作用层析介质上的配基浓度低，洗脱条件温和，有助于保持生物分子的生物活性。
c. 应用广，可以单独进行中度纯化和精细纯化，又可以直接和离子交换介质反复组合使用。
d. 分辨率高。

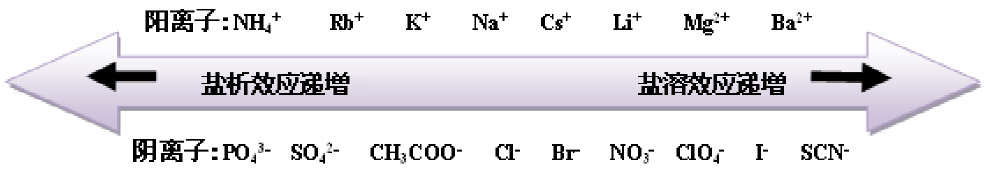
表1：性能参数

| | |
|---|---|
| 基质 | 高度交联 6%琼脂糖 |
| 粒径范围 | 25-45 μm |
| 平均粒径 | 37 μm |
| 配基浓度 | 50umol/ml（介质) |
| pH 稳定性 | 2-14（短期） 3-13（长期） |
| 化学稳定性 | 所有常用缓冲溶液，1M 乙酸、1M 氢氧化钠、8M 尿素、6M 盐酸胍、30%异丙醇、70%乙醇 |
| 最大流速 | 150cm/h |
| 贮存溶液 | 20% 乙醇 |
| 贮存温度 | 4-30℃ |

表2：影响疏水层析的因素

| 影响因素 | 作用机理 | 处理建议 |
|---|---|---|
| 配基结构 | 不同的配基与蛋白的结合能力强弱不同 | 建议预实验筛选合适的介质，可以参考图 1 |
| 配基浓度 | 配基浓度越高结合能力越强 | 建议预实验选择最优配基浓度 |
| 样品性质 | 蛋白质的疏水性强弱取决于其表面疏水基团的分布 | / |
| 盐的浓度 | 盐浓度越高，配基和蛋白质结合的越牢固，但过高的盐浓度会导致蛋白沉淀 | 检测不同盐浓度下蛋白的溶解性和稳定性 |
| 盐的种类 | 不同类型的盐会产生不同的结合效果 | 优先选择$(NH_4)_2SO_4$ 和 NaCl，其它选择参考图 2 |

| | | |
|---|---|---|
| 温度 | 温度越高，蛋白疏水性越强 | 必须要维持同样的温度，建议维持室温 |
| pH | 过高的或过低的 pH 会影响蛋白质的溶解性和稳定性，并且 pH 会影响结合效果 | 在保证蛋白的溶解性和稳定的前提下，建议 pH 范围在 5.0-8.5 |




**2. 使用（以 HT 1ml 和 HT 5ml 为例）**

a.水洗

用 5-10CV 纯化水以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)清洗介质。

备注：此步骤用于去除介质中 20%乙醇。

b.平衡

用 5-10CV 平衡液以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)平衡介质，直至基线平稳后调零。

备注：此步骤用于平衡介质，保证介质中的溶液的组分和 pH 与样本一致。

c.上样

样本经过离心、过滤（0.45um）后以 0.5ml/min(HT 1ml)或 1.0ml/min(HT 5ml)进行上样，上样完成后用平衡液进清洗直至基线为零。

备注：样本中的离子强度和 pH 务必和平衡液保持一致。

d.洗脱（根据客户的设备条件选择不同的洗脱方式）

线性梯度洗脱（使用层析系统）：0%-100%洗脱液，20CV，以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)流速进行线性梯度洗脱，收集洗脱峰。

阶梯式洗脱（使用蠕动泵）：采用逐渐降低盐浓度的方式以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)的流速进行阶梯式洗。

备注：强烈推荐进行线性梯度洗脱；如果采用阶梯式洗脱，需要配制一系列不同盐浓度的洗脱液*。

*：洗脱液Ⅰ-0.05M PB、1.50M $(NH_4)_2SO_4$，pH 7.0；
洗脱液Ⅱ-0.05M PB、1.25M $(NH_4)_2SO_4$，pH 7.0；
洗脱液Ⅲ-0.05M PB、1.00M $(NH_4)_2SO_4$，pH 7.0；
洗脱液Ⅳ-0.05M PB、0.75M $(NH_4)_2SO_4$，pH 7.0；

洗脱液Ⅴ-0.05M PB、0.50M $(NH_4)_2SO_4$，pH 7.0；
洗脱液Ⅵ-0.05M PB、0.25M $(NH_4)_2SO_4$，pH 7.0；
洗脱液Ⅶ-0.05M PB，pH 7.0。

e.水洗

用 5-10CV 纯化水以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)清洗介质。

备注：此步骤用于去除介质中洗脱液。

f.保存

用 5-10CV 贮存液以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)清洗介质后保存。

备注：贮存液可以防止微生物的生长。

g.溶液配制

平衡液：0.05M PB、1.70M $(NH_4)_2SO_4$，调节 pH 7.0，室温保存。

备注：在高盐浓度下，一些蛋白可能会沉淀，建议检测不同盐浓度下蛋白质的溶解性和稳定性；

当使用$(NH_4)_2SO_4$时，溶液的 pH≤8.0。

洗脱液：0.05M $PB_4$，调节 pH 7.0，室温保存。

贮存液：20%乙醇，室温保存。

## 3. 清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性物质、沉淀等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量、流动性、柱效等）。

建议每使用 5 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

a.用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。
备注：此步骤用于去除介质中 20%乙醇。
b.用 5-10 倍柱体积 1M 氢氧化钠冲洗后，静置 1 小时后立即用纯化水冲洗至中性。
备注：用于去除聚集在介质中的沉淀或变性物质。
c.用 5-10 倍柱体积 70% 乙醇或 30% 异丙醇冲洗后，静置 1 小时后立即用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。
备注：用于去除强疏水结合物质。
d.用 5-10 倍柱体积 20%乙醇冲洗后保存。
备注：20%乙醇可以防止微生物的生长，4-30℃保存（4-8℃更佳）。

## 4. 常见问题

表3：常见问题及解决方案

| 问题 | 可能原因 | 解决方案 |
|---|---|---|
| 纯化时目标物不与介质结合或结合量较低 | 1.上样量过载 | 降低上样量 |
| | 2.上样速度过快 | 降低上样流速 |

| | | |
|---|---|---|
| | 3.杂质蛋白或脂类在介质中聚集 | 及时有效地清洗介质或更换新的介质 |
| | 4.平衡液中盐浓度较低或目标物疏水性较弱 | 加大平衡液中盐浓度或更换盐的种类或更换结合能力更强的疏水介质 |
| 洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物 | 1.目标物没有与介质结合或结合量较少 | 先确认目标物是否与介质结合 |
| | 2.洗脱时间不够 | 降低流速，延长洗脱液的保留时间 |
| | 3.洗脱体积过小 | 加大洗脱体积 |
| | 4.目标物和介质结合强度太高 | 降低平衡液中盐浓度或更换盐的种类或或更换结合能力较弱的疏水介质在洗脱液中加入添加剂（少量去污剂或者低浓度有机试剂） |
| 目标物纯度较低 | 1.样品没有经过前处理 | 样品上柱前必须要经过离心或过滤 |
| | 2.样品粘度过高 | 用平衡液适当的稀释样品，降低粘度。 |
| | 3.洗杂不彻底 | 加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致 |
| | 4.杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀 | 及时有效地清洗介质 |
| | 5.洗脱条件不佳，洗脱速度太快、梯度太陡。 | 调整洗脱条件 |
| | 6.柱料装填效果不佳 | 重新装填或购买 |
| | 7.分离柱顶部有较大储样体积 | 重新装柱或降低储样体积 |
| | 8.介质选择性不合适 | 筛选合适的疏水介质 |
| | 9.介质中有微生物生长 | 介质使用完后，请及时正确保存介质 |
| 介质载量下降 | 1.上样速度过快 | 降低上样流速 |
| | 2.杂质蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降。 | 及时清洗介质 |
| | 3.使用次数过多，配基被氧化或脱落 | 及时清洗介质或更换新介质 |
| 色谱峰上升缓慢 | 介质装填过紧 | 重新装柱 |
| 色谱峰拖尾 | 介质装填太松 | 重新装柱 |
| 柱床有裂缝或干涸 | 出现泄露或大体积气泡引入 | 检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱 |
| 液流较慢 | 1.蛋白或脂类聚集 | 及时清洗介质或滤膜 |

| | | |
|---|---|---|
| | 2.目标物沉淀在介质中 | 调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性 |
| | 3.分离柱中微生物生长 | 所用试剂必须经过过滤和脱气、样品上柱前必须离心或过滤 |

## 5. 订购信息

表4：订购信息表

| 产品 | 规格(ml) | 货号 |
|---|---|---|
| Butyl 6HP | 25 | HS1001-3 |
| Butyl 6HP | 100 | HS1001-3 |
| Butyl 6HP | 500 | HS1001-3 |
| Butyl 6HP | 1000 | HS1001-3 |