

Boric Acid 亲和层析介质(4FF)

Boric Acid Beads 4FF

货号	规格
BDTL0077-25	25ml
BDTL0077-200	200ml

1. 产品介绍

Boric Acid Beads 4FF 是将硼酸类化合物偶联至琼脂糖凝胶上，能够结合含有 1,2 顺式二醇基团的分子。因此 Boric Acid Beads 4FF 可以用于结合糖类、核苷、核苷酸、核酸及酶类等，特别适合糖蛋白的分离纯化。Boric Acid Beads 4FF 稳定性好，应用广泛，可以在相对较高的流速下，实现对目的蛋白的纯化。具体性能见表 1。

表 1. Boric Acid 亲和层析介质产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	氨基苯硼酸
配基密度	>20 $\mu\text{mol/ml}$ 介质
粒径 (μm)	45-165
最大流速	300cm/h
pH 稳定范围	3-10
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1 \times PBS
储存温度	2-8 $^{\circ}\text{C}$

2. 纯化流程

2.1 Buffer 的准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

核苷类分离纯化

- 平衡/洗杂 Buffer: 50mM Phosphate buffer, 1.0M NaCl, pH7.8
- 洗脱 Buffer: 50mM Phosphate buffer, 1.0M NaCl, 100mM 山梨醇, pH7.8

糖蛋白分离纯化

- 平衡/洗杂 Buffer: 50mM taurine/NaOH, 20mM MgCl₂, pH8.7
- 洗脱 Buffer: 50mM taurine/NaOH, 20mM MgCl₂, 100mM 山梨醇, pH8.7 或 50mM Tris/HCl, pH8.7

注意：平衡液和洗脱液中不能有 Tris 及三乙醇胺类的物质。

2.2 样品准备

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

2.3 Boric Acid Beads 4FF 装填

Boric Acid Beads 4FF 被广泛应用于工业纯化，因此，涉及到各种中压色谱层析柱的装填，下面介绍使用 Boric Acid Beads 4FF 填装层析柱的方法。

层析柱的装填（使用储液器装填）

- 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1-2cm 的去离子水。
- 将树脂悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 打开层析柱底部出口，开启泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。（注意：在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%）当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。
- 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 如果使用储液器，去除储液器，将分配器置于层析柱中。
- 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。
- 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中，开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

2.4 样品纯化

Boric Acid Beads 4FF 装填好后，可以用各种常规的中低压色谱系统。

- 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。
- 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液。
- 使用至少 5 倍柱床体积的结合/洗杂液平衡色谱柱。
- 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。

- 用结合/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）。
- 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。

2.5 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. 层析介质再生和清洗

3.1 层析介质再生

3 倍柱体积的 0.1M Tris-HCl, 0.5M NaCl, pH8.5 和 0.1 M 醋酸钠, 0.5M NaCl, pH4.5 重复清洗 3 次。5 倍柱体积的平衡液平衡。

纤维蛋白溶酶原纯化后可以用 5 倍柱体积的含有 0.2M 氨基己酸和 1M NaCl 的结合液清洗。核酸纯化后可以用 5 倍柱体积的含有 2M NaCl 的结合液清洗。

3.2 层析介质清洗

再生未洗脱掉的变性蛋白和脂类可以用 0.1% Triton X-100, 37 °C 清洗。然后用 5 倍柱体积结合液平衡。

3.3 层析介质保存

层析介质可以保存在含有 20%乙醇的 1XPBS 中，2-8° C 保存

4 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Boric Acid 亲和层析介质(4FF) Boric Acid Beads	BDTL0077-25	25ml
4FF	BDTL0077-200	200ml