

Benzamidine 6B 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

Benzamidine 6B 适用于分离纯化胰蛋白酶、凝血酶、肠激酶、尿激酶、前激肽释放酶(激肽释放酶原)，也可用于快速去除细胞培养上清、细菌裂解产物、血清中的丝氨酸类蛋白酶。

- 快速、简单（一步纯化）。
- 载量高。
- 易于放大。

表1：性能参数

基质	6%的琼脂糖
粒径范围	45-165 μm
平均粒径	90 μm
配基	对氨基苯脒
结合载量	13mg(胰蛋白酶)/ml(介质)
pH 稳定性	1-9 (短期) 2-8 (长期)
化学稳定性	所有常用缓冲溶液、8M 尿素、6M 盐酸胍
流速	75cm/h
操作压力	$\leq 0.02\text{MPa}$
贮存溶液	0.05M 醋酸盐缓冲液、20%乙醇，pH 4.0
贮存温度	4-8 $^{\circ}\text{C}$

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（0.45 μm ）后以 0.2ml/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：Benzamidine-4FF(HS)具有一定的离子作用，样品中至少含 0.5M NaCl 且样品溶液的



pH 值维持在 7.4-8.0 之间。

d.洗脱

用 5-10CV 洗脱液以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)进行洗脱，并收集洗脱液。

备注：低流速常常能增加洗脱液中目标蛋白的浓度。

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：20%乙醇可以防止微生物的生长。

g.溶液配制

平衡液：0.05M Tris-HCl、0.5M NaCl，调节 pH 7.4，室温保存。

备注：平衡液配制完成后务必确保 pH 为 7.4，当样本所在溶液的 pH<6.5 或 pH>8.0 时，样本与介质作用较弱甚至是无效的。

洗脱液：洗脱液 I 0.05M Glycine，调节 pH 3.0，4℃保存（推荐）。

洗脱液 II 0.01M HCl、0.5 M NaCl，调节 pH 2.0，4℃保存（当洗脱效果不佳时采用洗脱液 2）。

洗脱液 III 0.05M Tris-HCl、0.5M NaCl、0.02M 对氨基苯甲脒，调节 pH 7.4（当目标物对低 pH 敏感时，可以采用此种洗脱方式。对氨基苯甲脒在 A₂₈₀ 时有较高的吸光值，须用 SDS-PAGE 或活性检测等其它检测方法检测洗脱液中组分）。

备注：洗脱液要求现配现用，4℃保存（极易生长微生物）。

贮存液：0.05M 醋酸盐缓冲液、20%乙醇，调节 pH 4.0，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 2-5 倍柱体积 1.0% Triton X-100 冲洗后，立即用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。

备注：用于去除疏水结合物质。

b.用 2-5 倍柱体积 6M 盐酸胍冲洗后，立即用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。

备注：用于去除聚集在介质中的沉淀或变性物质。

c.用 5-10 倍柱体积的 20%乙醇冲洗后保存。

备注：20%乙醇可以防止微生物的生长，4-8℃保存。



4. 常见问题

表2：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.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.样本或平衡液中pH不在正确的范围	保证样本和平衡液pH在6.5-8.0以内
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.洗脱条件不合适	更换洗脱液（选择上述使用步骤中推荐的洗脱液使用）
	3.洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	4.洗脱体积过小	加大洗脱体积
	5.目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀	检测目标物在洗脱液条件（pH）下的溶解度和稳定性。
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.目标物出现降解	检测目标物的稳定性
	7.柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	8.杂质出现非特异性吸附	适当选择添加剂降低非特异性吸附
	9.分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	10.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.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.蛋白沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分,以维持目标物的稳定性和介质的结合效率
	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3: 订购信息表

产品	规格(ml)	货号
Benzamidine 6B	25	HZ1014-2
Benzamidine 6B	100	HZ1014-2
Benzamidine 6B	500	HZ1014-2
Benzamidine 6B	1000	HZ1014-2

