NanoHR 疏水层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0202

版本号：A0

NanoHR 疏水层析介质使用说明

疏水层析产品简介

疏水层析是利用生物大分子自身亲疏水性差异从而实现分离的技术。在高盐条件下生物大分子吸附在疏水层析介质的疏水基团上，通过降低盐浓度，不同蛋白按疏水性从弱到强依次被洗脱，从而达到分离纯化的目的。疏水层析操作条件温和、分辨率高，是生物大分子分离纯化常用的方法之一。

纳微疏水层析介质 NanoHR 以单分散高交联 PS/DVB（聚苯乙烯/二乙烯基苯）亲水改性微球为基质，通过先进的键合技术将苯基和丁基疏水基团固定在基质表面，在高盐条件下吸附生物分子，低盐下洗脱。具有高吸附载量和低非特异性吸附的优点，适用于离子交换色谱过程之后进一步的分离纯化。

产品优势

(a) 采用单分散微球填料，批次间稳定性更佳

(b) 专利的表面键合技术，更高的动态载量

(c) 填料装柱压缩系数远低于琼脂糖和葡聚糖凝胶

(d) 更全的填料规格，提供客户专业定制化服务

(e) 机械强度高，反压更低，提高生产效率种需求。

图 1. NanoHR 疏水层析产品图

纯化操作步骤

层析柱装填

匀浆液的浓度是指层析介质沉降至恒定体积时的体积与匀浆液的总体积的比值。为了得到最佳的装柱效果，我们推荐匀浆液浓度为 50~70 %。具体装柱方法如下：

1）首先计算所装色谱柱的柱体积 Vc^*, $Vc = h \times \pi r^2$

**Vc：色谱柱柱体积；h:色谱柱高度；r：色谱柱半径。*

2）在原容器中轻轻搅动疏水层析介质，使其完全分散在液体中形成匀浆液。量取所需原液的体积*；

**一般情况下，疏水层析介质在压力作用下都会被压紧导致体积收缩，为了获得紧密的柱床，推荐量取填料的体积过量一些，一般为柱体积的 1.1 倍左右。*

3）添加 20%的乙醇匀浆，匀浆液浓度为 50%至 70%；

4）将匀浆液一次性倒入层析柱，按压缩系数 1.05-1.1 进行装柱。推荐先低流速恒流装柱，后大流速恒压装柱。

柱效评价

色谱柱装填好后，用流动相以 50~200 cm/h 流速平衡并进行柱效测试。具体测试参数详见表 3：

表 3. 疏水亲和层析色谱柱的柱效测试

样品	5% (v/v)丙酮的水溶液/2 M NaCl
上样量	0.5%~2% 柱体积
流动相	去离子水/0.5 M NaCl
线性流速	50~200 cm/h
检测	5 %丙酮上样： UV @ 280 nm 2 M NaCl 上样：电导检测仪

清洗

装好的色谱柱应使用至少使用 5 BV 的去离子水清洗。

平衡

在进行柱层析前，使用 3 到 5 倍柱体积的流动相。一般为缓冲液，如：用含 20 mM PBS 和 0.5 M NaCl 溶液, pH 7.0 平衡。

上样

固体样品可用平衡液溶解配制；低浓度样品溶液可用平衡液浓缩；高浓度样品溶液可用平衡液稀释。为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或膜过滤处理。进料量根据介质的载量和料液中目标蛋白的含量计算，上样前确保载量缓冲液应尽可能与平衡液一致。

洗脱

上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线稳定，可以根据实际情况采取降低盐浓度或改变流动相 pH 的方法依次洗脱吸附于层析介质上的样品。

再生

每次层析之后可用 3~5 BV 低离子强度的缓冲液流速再生层析柱，除去疏水结合较强（可逆结合）的蛋白，然后用 5 BV 的去离子水清洗，最后 5 BV 平衡缓冲液平衡层析柱。

在位清洗

为了保持层析柱的性能，若有蛋白质或其他杂质在再生过程中未能有效去除，可执行在位清洗步骤，在位清洗时，也可采用反向冲洗的方法，具体操作步骤如下：

（1）对以疏水性结合的沉淀蛋白或脂蛋白，可用 0.2~0.5 M NaOH 清洗（与层析介质接触时间 1～2 小时），并用 5 BV 以上平衡液和 3 BV 以上的去离子水清洗；

（2）对强疏水性结合的蛋白、脂蛋白和脂类物质，可用 5 BV 以上的 50%乙醇或 30%异丙醇清洗（与层析介质接触时间 0.5~1 小时），并用 5 BV 以上的去离子水清洗。也可以用含非离子表面活性剂的碱性或酸性溶液清洗，如用含 0.1~0.5%的 Triton X-100 和 0.1 M 乙酸清洗 1～2 小时，并用 5 BV 以上的 50%乙醇冲洗去除去污剂，然后用 5 BV 以上的纯水冲洗

(使用高浓度的有机溶剂时)为了避免产生气泡，应采用逐步增加有机溶剂浓度的方法）。

储存

暂时不使用的层析介质：需在 4～25 ℃ 的条件下，在 20 %乙醇中密封保存。

已经使用过的层析介质保存： 经过再生和清洗干净后，将层析介质置于 20 %的乙醇中密封保存。

表 1. 疏水层析介质属性一览表

产品系列	NanoHR 系列
基质	聚苯乙烯/二乙烯基苯
基团	Phenyl (苯基）或 Butyl (丁基）
每毫升动态吸附载量	25~30 mg/ml（溶菌酶 ）
粒径（μm）	15
孔径（Å）	1000
纯化阶段	精细纯化
主要特点	分辨率较高，耐压性好，寿命长，可长时间耐强酸强碱
典型应用	适合抗体，蛋白质，多肽，核酸等生物大分子的精细纯化

注：*疏水性由强到弱：辛基≈苯基>丁基>醚基, 还可以根据需求提供其他基团的疏水填料。*

表 2. 疏水层析介质产品技术参数一览表

产品名称	配基	粒径 μm	孔径 Å	最大耐压 MPa	建议线性流速 cm/h	pH 稳定范围 [1]	动态吸附载量 [2] mg/ml gel
NanoHR Butyl-15L	Butyl	15	1000	4.0	50-750	1-14	~25
NanoHR Phenyl-15L	Phenyl	15	1000	4.0	50-750	1-14	~30

1：pH 稳定范围指使用、再生、在位清洗的 pH 区间；

2：动态吸附载量使用 Lysozyme 测试。

故障排除

如果您在使用疏水层析产品遇到任何问题，请参考下表进行解决或联系我们。

1、柱压升高

原因分析	建议措施
流速过高	降低流速
泵和收集器之间的阀门未打开	打开出口

2、样品吸附不够充分

原因分析	建议措施
样品溶液中离子强度太高	降低样品溶液中的离子强度，如可采用稀释或脱盐等手段
样品的 pH 不合适	调节 pH 增加结合强度

3、样品在洗脱过程中不被洗脱

原因分析	建议措施
洗脱液的离子强度过低	增加洗脱液的浓度
洗脱液的洗脱能力过低	更换洗脱能力更强的洗脱液
洗脱液的 pH 不合适	调整洗脱液的 pH
色谱柱有残留疏水性较强的杂质	执行在位清洗操作（参考再生条件）

4、分辨率降低

原因分析	建议措施
不合适的洗脱条件，如梯度过陡或流速过高	改变洗脱条件，采用较缓的梯度洗脱或等度洗脱，降低流速

5、进样若干次后对样品的吸附能力降低

原因分析	建议措施
样品中的杂质结合在介质上，干扰了正常的结合	执行在位清洗操作（参考再生条件）

6、使用中柱床出现裂痕

原因分析	建议措施
溶胀未充分消除	用 0.5 M NaCl 混合均匀，充分平衡
溶液中有气泡	减压过滤除气
外部空气进入系统	加入更多缓冲液，将气体充分赶出

7、基线漂移

原因分析	建议措施
色谱柱未平衡好	增加平衡时间
洗脱液 A，B 在同一紫外波长下吸收系数不同	使用不同的波长或走没有样品的空白梯度

8、出现不明杂峰

原因分析	建议措施
前一个样品的不完全洗脱	再生
洗脱液不纯	运行空白梯度对照或使用高纯度的色谱纯级试剂
痕量离子性杂质结合在色谱柱上，在平衡和上样过程中被浓缩，洗脱时出峰	清洗色谱柱

订货信息

产品名称	包装	存货编码
NanoHR Butyl-15L	30 mL	06142-015100-2030
	100 mL	06142-015100-2100
	500 mL	06142-015100-2500
	1 L	06142-015100-1001
	5 L	06142-015100-1005
	10 L	06142-015100-1010
	50 L	06142-015100-1050
	100 L	06142-015100-1100
NanoHR Phenyl-15L	30 mL	06141-015100-2030
	100 mL	06141-015100-2100
	500 mL	06141-015100-2500
	1 L	06141-015100-1001
	5 L	06141-015100-1005
	10 L	06141-015100-1010
	50 L	06141-015100-1050
	100 L	06141-015100-1100

2022 年版

注：*NanoHR还可以提供7.7 mm × 22 mm 、16 mm ×25 mm 、7.7 mm×100 mm 的层析预装柱。更多规格型号或定制需求，请联系我们。*

苏州纳微科技股份有限公司
全国咨询热线：400-828-1622
中文网站：www.nanomicrotech.com
英文网站: www.nanomicro-technology.com
邮箱：info@nanomicrotech.com
总部地址：苏州工业园区百川街 **2** 号 **215123**