

Heparin Agarose Beads 6FF (QS01040)

目录

一、	产品介绍.....	1
二、	溶液配置.....	1
三、	样品制备.....	1
四、	纯化流程.....	1
五、	清洗和再生.....	2
六、	常见问题.....	2
七、	订购信息.....	3

一、 产品介绍

Heparin Agarose Beads 6FF是一种用于纯化肝素依赖性生物分子的亲和层析介质，包括抗凝血酶III、凝血因子和其他血浆蛋白、DNA结合蛋白、脂蛋白、蛋白合成因子、核酸作用酶和类固醇受体。Heparin Agarose Beads 6FF采用高度交联的6%琼脂糖介质，可耐受较高的流速及化学稳定性，适合大规模纯化。具体性能见表1。

表1、Heparin Agarose Beads 6FF产品特点

基质	6%高刚性琼脂糖
粒径范围	45-165 μ m
配体	肝素钠
配体密度	>4mg/mL介质
流速	\leq 500cm/h
操作压力	\leq 0.3MPa
pH稳定范围	4-12
贮存溶液	20%乙醇
贮存温度	4-8 $^{\circ}$ C

二、 溶液配置

所有缓冲溶液用0.45微米滤膜过滤。

结合/洗杂缓冲液：50 mM Tris-HCl，10 mM 柠檬酸钠，pH 7.4

洗脱缓冲液：50 mM Tris-HCl，10 mM 柠檬酸钠，1 M NaCl，pH 7.4

三、 样品制备

样品在上样前最好用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤，减少杂质以防阻塞柱子。另外，确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用结合/洗涤缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用结合/洗涤缓冲液透析。

四、 纯化流程

4.1 Heparin Agarose Beads 6FF的装填（适用于各种中压色谱层析柱的填装）

1) 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 1-2 cm 的去离子水。

2) 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。

3) 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。

4) 打开层析柱底部出口，开起泵，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，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】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。

5) 关闭泵，关闭层析柱出口。

6) 如果使用储液器，去除储液器，将分配器至于层析柱中。

7) 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。

8) 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。

4.2 样品纯化

1) 平衡：用 5 倍柱体积的结合 Buffer 平衡层析柱，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) 上样：将样品加到平衡好的层析柱中，保证目的蛋白与树脂充分接触，提高目的蛋白的回收率，收集流出液，待检测。

3) 洗杂：用 10-15 倍柱体积的洗杂缓冲溶液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液，待检测。

4) 洗脱：使用 5-10 倍柱体积的洗脱缓冲液，收集洗脱液，即目的蛋白溶液。

5) 清洗及保存：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。

4.3 SDS-PAGE 检测

将纯化过程中得到的样品（包括原始样品、流出组分、洗杂及洗脱组分等）利用 SDS-PAGE 进行检测，判定其纯化效果。

【注】由于盐酸胍的带电性强，会中和 SDS 的电荷，影响后面蛋白在上样缓冲液里的带电性能，电泳时产生沉淀，导致无法电泳。因此后续可以对样本进行透析或者盐析（透析可利用透析袋，PBS 作为透析液，透析两次，每次 1 小时，透析液的体积可控制在样本的 100 倍）。

五、清洗和再生

随着非特异结合蛋白的增多和蛋白的聚集，会造成流速和结合载量性能下降，此时需对填料进行清洗。

1) 去除一些沉淀或变形物质

用 2 倍柱体积的 0.1 M NaOH 或 6 M 盐酸胍或 8 M 尿素溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

2) 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70% 乙醇或 2 倍柱体积 1% Triton X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

六、常见问题



- 1) 请勿冷冻保存本产品。
- 2) 填料长期不用，建议将其用20%乙醇储存于2-8℃条件下。

七、 订购信息

产品名称	货号
Heparin Agarose Beads 6FF	QS01040
Streptavidin Agarose Beads 6FF	QS01014
Streptactin XT Agarose Beads 6FF	QS01031
Streptactin Agarose Beads 4FF	QS01015
Dextrin Agarose Beads 4FF	QS01013
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012
rProtein A/G Agarose Resins4FF	QS01011