



肝素琼脂糖凝胶中压层析预装柱(1mL,5mL和20mL)

货号: QS01040B

目录

1 产品概述	1
2 核心技术参数	2
2.1 通用性能参数.....	2
2.2 规格参数对比.....	2
3 溶液配制	2
4 样品制备	2
5 纯化操作流程	3
5.1 使用前准备.....	3
5.2 标准纯化步骤.....	3
5.3 纯化效果检测 (SDS-PAGE)	3
6 柱体清洗与再生.....	3
6.1 常规再生 (每次使用后推荐)	3
6.2 深度再生 (污染较严重时)	3
7 注意事项与常见问题.....	3
7.1 通用注意事项.....	4
7.2 常见问题及处理.....	4
8 订购信息	4
本系列预装柱产品.....	4
其他相关亲和层析产品.....	4

1 产品概述

本系列预装柱采用 **Heparin Agarose Beads 6FF** 亲和层析介质预先装填而成, 专为肝素依赖性生物分子的快速纯化设计, 广泛应用于抗凝血酶 III、凝血因子、DNA 结合蛋白、脂蛋白、核酸作用酶及类固醇受体的分离纯化。

产品核心优势

- **即开即用:** 工厂标准化装填, 柱床均匀致密, 批次间一致性优异, 无需用户自行装柱, 大幅节省实验时间
- **多规格覆盖:** 提供 1ml、5ml、20ml 三种标准规格, 适配实验室小规模筛选、中试放大及小规模生产需求
- **高机械强度:** 采用 6% 高刚性交联琼脂糖基质, 可耐受高流速操作, 缩短纯化周期
- **高结合载量:** 配体密度 > 4mg/mL 介质, 保证目的蛋白的高回收率



- **化学稳定性好：** pH 稳定范围 4-12，兼容多种常用清洗和再生试剂

2 核心技术参数

2.1 通用性能参数

参数项	技术指标
基质	6% 高刚性交联琼脂糖
粒径范围	45-165 μ m
配体	肝素钠
配体密度	>4mg/mL 介质
最大操作压力	\leq 0.3MPa
pH 稳定范围（工作 / 清洗）	4-12
贮存溶液	20%（v/v）乙醇水溶液
推荐贮存温度	4-8 $^{\circ}$ C
推荐使用温度	4-25 $^{\circ}$ C
建议重复使用次数	\leq 10 次（视样品复杂度而定）

2.2 规格参数对比

规格	柱内径	柱床高度	最大流速	推荐流速	最大上样量
1mL	7mm	26mm	4mL/min	1-2mL/min	\leq 10mg
5mL	10mm	64mm	10mL/min	3-5mL/min	\leq 50mg
20mL	16mm	100mm	25mL/min	8-15mL/min	\leq 200mg

注：最大上样量基于抗凝血酶 III 测定，实际载量因目的蛋白性质、样品纯度及操作条件而异。

3 溶液配制

所有缓冲液配制完成后，必须经 0.45 μ m 滤膜过滤并脱气后方可使用，避免杂质堵塞筛板或气泡进入柱体影响分离效果。

- **结合 / 洗杂缓冲液：** 50mM Tris-HCl，10mM 柠檬酸钠，pH 7.4
- **洗脱缓冲液：** 50mM Tris-HCl，10mM 柠檬酸钠，1M NaCl，pH 7.4
- **再生缓冲液：** 0.1M NaOH 溶液、6M 盐酸胍溶液、8M 尿素溶液、70% 乙醇溶液
- **保存液：** 20%（v/v）乙醇水溶液

4 样品制备

样品预处理是保证纯化效果和延长柱体使用寿命的关键步骤：

1. **澄清过滤：** 所有样品上样前必须经 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤；若样品浑浊，先于 4 $^{\circ}$ C、12000rpm 离心 10 分钟，取上清液过滤。
2. **缓冲体系匹配：** 确保样品 pH 值为 7.0-7.6，离子强度与结合缓冲液一致。
 - 血清、腹水、细胞培养液等可直接用结合缓冲液稀释；
 - 高盐或 pH 偏离较大的样品，需用结合缓冲液透析过夜（透析液体积为样品的 100 倍）或通过脱盐柱置换缓冲液。
3. **上样量控制：** 根据柱体规格和目的蛋白含量调整上样体积，避免过载导致纯度下降。



5 纯化操作流程

5.1 使用前准备

1. 将预装柱从 4°C 冰箱取出，室温平衡 15-30 分钟，避免柱内产生冷凝气泡。
2. 检查柱体外观，确认无漏液、柱床无干裂、无气泡及分层现象。
3. 拧下柱体上下端的保护帽，保留保护帽以备后续保存使用。
4. 将柱体连接至中压色谱系统，注意流向（柱体箭头方向为流动相方向，**严禁反向高压冲洗**）。

5.2 标准纯化步骤

步骤	操作说明	1ml	5ml	20ml
1. 平衡	用结合缓冲液冲洗柱体，至紫外吸收值和电导率基线平稳	5mL	25mL	100mL
2. 上样	将预处理后的样品以推荐工作流速上样，收集流出液	-	-	-
3. 洗杂	用洗杂缓冲液冲洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，至紫外吸收值回到基线	10-15mL	50-75mL	200-300mL
4. 洗脱	用洗脱缓冲液进行一步或线性梯度洗脱，收集洗脱峰组分	5-10mL	25-50mL	100-200mL
5. 柱后平衡	用结合缓冲液冲洗柱体，为下一次使用做准备	3mL	15mL	60mL
6. 保存	用 20% 乙醇水溶液冲洗柱体，拧紧上下保护帽	5mL	25mL	100mL

重要提示：洗脱过程中可根据目的蛋白性质调整 NaCl 浓度梯度，以获得更高的分离度；若无需立即重复使用，完成柱后保存步骤后置于 4°C 冰箱储存。

5.3 纯化效果检测（SDS-PAGE）

取原始样品、流出液、洗杂液和洗脱液组分，进行 SDS-PAGE 电泳分析，判定目的蛋白的纯度和回收率。

关键注意事项：若样品中含有盐酸胍，会中和 SDS 电荷导致电泳沉淀。此类样品需先透析处理：用 PBS 作为透析液，透析 2 次，每次 1 小时，透析液体积为样品的 100 倍。

6 柱体清洗与再生

随着使用次数增加，非特异性结合的蛋白和聚集物会导致柱压升高、结合载量下降，此时需进行清洗再生。根据污染类型选择对应方法：

6.1 常规再生（每次使用后推荐）

用 3 倍柱体积的 0.1M NaOH 溶液冲洗柱体，接触时间不超过 15 分钟，立即用 5 倍柱体积的 PBS（pH 7.4）冲洗至中性，再用结合缓冲液平衡。

6.2 深度再生（污染较严重时）

1. **去除沉淀 / 变性蛋白：**用 2 倍柱体积的 6M 盐酸胍或 8M 尿素溶液冲洗，立即用 5 倍柱体积的 PBS 冲洗至中性。
2. **去除疏水性杂质：**用 3 倍柱体积的 70% 乙醇溶液冲洗，立即用 5 倍柱体积的 PBS 冲洗至无残留。

再生限制：严禁使用 1% Triton X-100 等表面活性剂清洗预装柱，以免导致柱床塌陷；再生总次数不超过 10 次，超过后柱效会显著下降。

7 注意事项与常见问题



7.1 通用注意事项

- 储存要求:** 严禁冷冻或高温保存, 否则会破坏琼脂糖基质结构; 长期不用时, 需将柱体充满 20% 乙醇水溶液, 拧紧保护帽, 置于 4°C 密封保存。
- 操作限制:** 严禁超过最大操作压力和流速; 严禁反向高压冲洗柱体; 严禁拆开柱体取出填料。
- 避免干柱:** 使用过程中切勿让柱床干涸, 否则会导致柱床开裂、柱效不可逆下降。
- 试剂兼容性:** 避免使用强氧化剂、高浓度有机溶剂 (如丙酮、乙腈) 处理柱体, 以免导致配体脱落。

7.2 常见问题及处理

问题现象	可能原因	处理方法
柱压过高	1. 样品未过滤, 颗粒杂质堵塞筛板 2. 上样量过大, 蛋白聚集 3. 杂质积累未及时再生	1. 所有样品必须经 0.22 μ m 滤膜过滤 2. 降低上样量 3. 按深度再生方法清洗柱体
目的蛋白回收率低	1. 上样流速过快, 结合不充分 2. 洗杂不彻底, 杂蛋白竞争结合 3. 洗脱条件过强	1. 降低上样流速至推荐范围下限 2. 增加洗杂缓冲液体积 3. 降低洗脱液 NaCl 浓度或采用梯度洗脱
洗脱峰拖尾 / 分叉	1. 柱床出现气泡或分层 2. 样品过载 3. 柱体使用次数过多, 柱效下降	1. 用结合缓冲液低速冲洗排除气泡 2. 减少上样量 3. 更换新的预装柱
柱体漏液	1. 接头未拧紧 2. 柱体两端密封垫老化	1. 拧紧色谱系统接头 2. 更换密封垫或新柱体

8 订购信息

本系列预装柱产品

产品名称	规格	产品货号
Heparin Agarose Beads 6FF 中压层析预装柱	1ml	QS01040B-1mL
Heparin Agarose Beads 6FF 中压层析预装柱	5ml	QS01040B-5mL
Heparin Agarose Beads 6FF 中压层析预装柱	20ml	QS01040B-20mL

其他相关亲和层析产品

产品名称	散装填料货号
Streptavidin Agarose Beads 6FF	QS01014
Streptactin XT Agarose Beads 6FF	QS01031
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012
rProtein A/G Agarose Resins 4FF	QS01011