Heparin Beads 6FF 重力柱

目录

1. 产品介绍.....1
2. 纯化流程.....1
3. 介质清洗.....2
4. 订购信息及相关产品.....2

1. 产品介绍

Heparin 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 Beads 6FF 采用高度交联的 6%琼脂糖介质，可耐受较高的流速，具有较高的化学稳定性，适合大规模纯化。具体性能见表 1。

Heparin Beads 6FF 重力柱以 Heparin Beads 6FF 装填材料，提供 1 ml 和 5 ml 两种规格产品，方便客户使用，操作简单，纯化效率高。

表 1. Heparin Beads 6FF 产品性能

项目	性能
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
配体	肝素钠
载量	＞4 mg/ml 基质
微球粒径	45-165 μm
最大压力	0.3 MPa，3 bar
pH 稳定范围	4-12
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8℃

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

平衡/洗杂液: 10-100 mM Tris，10 mM Sodium Citrate，pH 7.4

洗脱液: 10-100 mM Tris，10 mM Sodium Citrate，1M NaCl，pH 7.4

注意：平衡液和洗脱液可根据样品性质进行适当改变，原则是低盐上样高盐洗脱。

2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 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 样品纯化

Heparin Beads 6FF 重力柱使用请参考以下说明，各溶液用量均按照柱体积计算（例如：2 个柱体积，1 ml 规格对应为 2 ml 溶液，5 ml 规格对应为 10 ml 溶液）。整个纯化流程大约需要 30 min（主要取决于样品体积和溶液的粘稠性），操作快捷。使用流程请参考图 1。

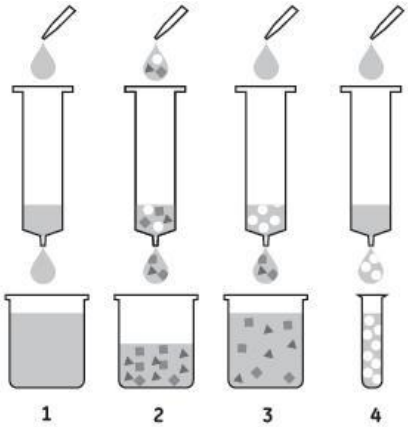

图 1. 使用 Heparin Beads 6FF 重力柱纯化蛋白流程示意图

Step 1：柱子平衡；Step 2：上样；Step 3：洗杂；Step 4：洗脱

1) 将 Heparin Beads 6FF 重力柱固定在铁架台上，依次去掉下端塞和上端塞，流干重力柱的保护液。
2) 向柱管中加入 5 个柱体积的平衡液，进行平衡，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。
3) 将样品加到平衡好的重力柱中，样品保留时间至少 2min，保证目的蛋白与介质充分接触，提高目的蛋白的回收率。收集流出液，用于 SDS-PAGE 分析蛋白质的结合情况，在出现问题时，更方便寻找解决问题的方案。
4) 用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
5) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液进行目的蛋白的洗脱，分段收集，每一个柱体积收集一管，分别检测，既可以保证所有结合的目的蛋白被洗脱，又可以得到高纯度和高浓度的蛋白。
6) 依次使用 3 倍柱体积的平衡液和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料。将重力柱保存在等体积的 20%乙醇中，置于 2-8℃保存，防止填料被细菌污染。

2.4 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. 在位清洗

Heparin Beads 6FF 纯化产品可以重复使用而无需再生，但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，这时可按照下面方法对树脂进行清洗。

去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法

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。

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 倍柱体积的 1% Triton X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2 M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Heparin Beads 6FF 重力柱	SA024GC01	1 ml
	SA024GC05	5 ml