PreCap Heparin

目录

1. 产品介绍.....1
2. 纯化流程.....1
3. 填料清洗.....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。

PreCap Heparin 是一种中压预装柱，有 1 ml 和 5 ml 两种规格的预装柱，分别填装 1 ml 和 5 ml **Heparin Beads 6FF**，共有 5 种不同包装规格的产品。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中低压色谱系统，如ÄKTA 等，方便客户操作。

表 1. Heparin Beads 6FF 产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
配体	肝素钠
配体密度	>4 mg/ml 介质
粒径范围	45-165 μm
最大流速	0.3 MPa，3 bar
pH 稳定范围	4-12
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1XPBS
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 0.22μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

平衡液：50 mM Tris-HCl，10 mM 柠檬酸钠，pH7.4

洗杂液：50 mM Tris-HCl，10 mM 柠檬酸钠，pH7.4

洗脱液：50 mM Tris-HCl，10 mM 柠檬酸钠，1-2 M NaCl，pH7.4

注：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

PreCap Heparin 可以用各种常规的中压色谱系统，以ÄKTA 仪器使用为例介绍 **PreCap Heparin** 使用方法。

1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中。再折断下口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。

2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。

3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。1 ml 预装柱推荐流速为 1 ml/min，5 ml 预装柱推荐流速为 3 ml/min。

4) 利用泵或样品环上样。**注：**样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。

5) 用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积）。

6) 用洗脱液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5 倍柱体积洗脱液就足够了。线性洗脱可以 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。

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. 填料清洗

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	SA024005	5 ml
	SA024025	25 ml
	SA024100	100 ml
	SA024500	500 ml
	SA02401L	1 L
	SA02410L	10 L
PreCap Heparin	SA024C11	1X1 ml
	SA024C51	5x1ml
	SA024C15	1X5ml
	SA024C55	5X5 ml
	SA024CS	3X1 ml+1X5 ml