

Heparin Beads 6FF

Cat# PX0001

Storage at 4°C - 30°C

產品介紹

Heparin Beads 6FF 為一種用於純化肝素依賴性生物分子的親和層析介質，包括抗凝血酶 III、凝血因數和其他血漿蛋白、DNA 結合蛋白、脂蛋白、蛋白合成因數、核酸作用酶和類固醇受體。Heparin Beads 6FF 採用高交聯 6% 瓊脂糖介質，可承受較高流速及化學穩定性，適合大規模純化。

性能	指標
基質	高度交聯的6%瓊脂糖微球
配體	肝素鈉
配體密度	>4mg/ml 介質
粒徑 (µm)	45-165
最大流速	0.3 MPa, 3 bar
pH 穩定範圍	4-12
儲存緩衝液	含20%乙醇 1XPBS
儲存溫度	4°C - 30°C

2. 純化流程

2.1 緩衝液準備

所用水和 Buffer 在使用之前建議用 0.22µm 或 0.45µm 濾膜過濾。

結合液: 50mM Tris-HCl · 10mM 檸檬酸鈉 · pH7.4

洗雜液: 50mM Tris-HCl · 10mM 檸檬酸鈉 · pH7.4

沖提液: 50mM Tris-HCl · 10mM 檸檬酸鈉 · 1M NaCl · pH7.4

注: 結合液和沖提液可根據樣品性質進行適當改變，原則是低鹽上樣高鹽沖提。

2.2 樣品準備

樣品在上樣前建議離心或以 0.22µm 或 0.45µm 濾膜過濾，減少雜質，提高蛋白純化效率及防止管柱堵塞。

2.3 Heparin Beads 6FF 裝填

Heparin Beads 6FF 廣泛應用於工業純化，以下介紹使用 Heparin Beads 6FF 填裝層析柱的方法。

層析柱的裝填 (使用儲液器裝填)

- 1) 以去離子水沖洗層析柱底篩板與接頭，確保柱底篩板上無氣泡，關閉柱底出口，並在柱底部留出 1-2cm 的去離子水。
- 2) 將樹脂懸浮起，小心將漿液連續地倒入層析柱中。以玻璃棒沿著柱壁倒入漿液，減少氣泡產生。
- 3) 若使用儲液器，應立即在層析柱和儲液器中加滿水，將進樣分配器置於漿液表面，連接至泵上，避免在分配器或進樣管中產生氣泡。

4) 打開層析柱底部出口，開起泵，使其在設定的流速下進行。最初應讓緩衝液緩慢流過層析柱，然後緩慢增加至最終流速，可避免液壓對形成柱床產生衝擊，也可避免柱床形成不均勻。(注意：在隨後的色譜程式中，不要超過最大裝柱流速的 75%) 當柱床高度穩定後，在最後裝柱流速下再上 3 倍柱床體積以上的去離子水。標記柱床高度。

5) 關閉泵，關閉層析柱出口。

6) 若使用儲液器，去除儲液器，將分配器置於層析柱中。

7) 將分配器推向柱子至標記的柱床高度處。允許裝柱液進入分配器，鎖緊分配器接頭。

8) 將裝填好的層析柱連接至泵或色譜系統中，開始平衡。若需要可重新調整分配器。

2.4 樣品純化

1) 將 Heparin Beads 6FF 裝入合適的層析柱，使用 5 倍柱體積的結合液進行平衡，使填料處於與目的蛋白相同緩衝體系下，起保護蛋白的作用。

2) 將樣品加至平衡好的 Heparin Beads 6FF 中 (確保目的蛋白與 Heparin Beads 6FF 充分接觸，提高目的蛋白回收率)，收集流出液。

3) 以 10-15 倍柱體積洗雜液進行清洗，去除非特異性吸附的雜蛋白，收集洗雜液。

4) 以 5-10 倍柱體積沖提液，收集沖提液，即目的蛋白組分。

5) 依次使用 3 倍柱體積的結合液及 5 倍柱體積的去離子水平衡填料，最後再以 5 倍柱體積的 20% 的乙醇平衡，保存在等體積 20% 乙醇中，置於 4 度保存，防止填料細菌污染。

2.5 SDS-PAGE 檢測

將使用純化產品得到的樣品(包括流出組分、洗雜組分和沖提組分)以及原始樣品使用 SDS-PAGE 檢測純化效果。

3. 填料清洗

Heparin Beads 6FF 純化產品可重複使用而無需再生，但隨著非特異性結合蛋白增多和聚集，造成流速和結合載量下降，此時請按照以下方法對樹脂進行清洗，去除沉澱或變性物質。

以 2 倍柱體積的 0.1M NaOH 或 6M 鹽酸胍或 8M 尿素溶液進行清洗，立即用 5 倍柱體積 PBS, pH 7.4 清洗。

去除一些疏水性吸附造成的非特異性吸附物質用

以 3-4 倍柱體積 70% 乙醇或 2 倍柱體積的 1% Triton™ X-100 清洗，立即用 5 倍柱體積 PBS, pH 7.4 清洗。

去除一些離子鍵結合物質

以 3-4 倍柱體積 2M NaCl 清洗，立即用 5 倍柱體積 PBS, pH 7.4 清洗。