

肝素层析介质（6FF）

Heparin Beads 6FF

名称	货号	规格
肝素层析介质（6FF）	BDTL0013-25	25ml
肝素层析介质（6FF）预装柱	BDTL0013-11	1×1ml
	BDTL0013-51	5×1ml
	BDTL0013-15	1×5ml
	BDTL0013-55	5×5ml
	BDTL0013-3115	3×1ml+1×5ml

1. 产品介绍

肝素层析介质（6FF）是一种用于纯化肝素依赖性生物分子的亲和层析介质，纯化对象包括抗凝血酶 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。本品采用高交联的 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。

表 1. 肝素层析介质（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	>4mg/ml 介质
粒径 (μm)	45-165
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	4-30°C

2. 纯化流程

2.1 Buffer 的准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

- 结合 Buffer: 10-100mM Tris-HCl, 10mM 柠檬酸钠, 200-500mM NaCl, pH7.4

- 洗杂 Buffer: 10-100mM Tris-HCl, 10mM 柠檬酸钠, 200-500mM NaCl, pH7.4
- 洗脱 Buffer: 10-100mM Tris-HCl, 10mM 柠檬酸钠, 1-2M NaCl, pH7.4

注：结合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 μ m 或 0.45 μ m 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 肝素层析介质（6FF）装填

本品被广泛应用于工业纯化，因此，涉及到各种中压色谱层析柱的装填。

层析柱的装填（使用储液器装填）

- 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 1-2cm 的去离子水。
- 将层析介质悬浮起来，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。
- 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。
- 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，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你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。（注意：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。
- 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 如果使用储液器，去除储液器，将分配器至于层析柱中。
- 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。
- 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。

2.4 样品纯化

- 将层析介质装入合适的层析柱，层析用 5 倍柱体积的结合 Buffer 进行平衡，使层析介质处于与目的蛋白相同的缓冲体系下，起到保护蛋白的作用。
- 将样品加到平衡好的层析介质中（保证目的蛋白与层析介质充分接触，提高目的蛋白的回收率），收集流出液。
- 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer，收集洗脱液，即目的蛋白组分。

- 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层析介质，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°C 保存，防止层析介质被细菌污染。

2.5 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. 层析介质清洗

本层析介质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层析介质进行清洗。

➤ 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 0.1M NaOH 或 6M 盐酸胍或 8M 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 2M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。