



此说明仅限参考

肝素-琼脂糖凝胶预装重力柱 使用说明

肝素是一种含硫酸酯的酸性多糖，将它偶联到交联及活化的琼脂糖凝胶上，该填料具有很高的物理化学稳定性。肝素能和凝血因子和其他血浆蛋白，脂蛋白，蛋白质合成因子，作用于核酸和类固醇受体的酶，所以肝素琼脂糖凝胶可以用于这类物质的纯化。

1 亲和填料特性

产品名称	肝素-琼脂糖凝胶6FF	肝素-琼脂糖凝胶CL-6B	肝素-琼脂糖凝胶HP
基质	6%的交联琼脂糖凝胶	6%的交联琼脂糖凝胶	6%的交联琼脂糖凝胶
配基密度	2-4 mg/ml	2-4 mg/ml	2-4 mg/ml
吸附载量	2-3mg 抗凝血因子III (AT)	约2mg 抗凝血因子III (AT)	2-3mg 抗凝血因子III (AT)
平均粒径	45-165 μ m	45-165 μ m	平均粒径34 μ m
最大流速*	300cm/h	150cm/h	150cm/h
pH范围	4-10	5-10	4-10
保存条件	4-8 $^{\circ}$ C	4-8 $^{\circ}$ C	4-8 $^{\circ}$ C

*层析柱10mm*10cm，柱床高度5cm，25 $^{\circ}$ C

2 使用方法

肝素-琼脂糖凝胶对于不同的样品的亲和力不同，吸附载量取决于流速、pH、缓冲液组成和温度等参数。

2.1 装柱

(1) 让所有的材料和试剂均平衡至层析实验的温度。配制缓冲液，对所有的缓冲液进行脱气处理。

(2) 层析柱保存液是 20%乙醇，实验前，需用去离子水清洗掉 20%乙醇，水洗大概 5 个柱体积。

2.2 样品的制备

样品应完全溶解，并且与结合缓冲液的pH值相同。为了避免堵塞层析柱，我们建议通过0.45 μ m过滤器进行离心和过滤，以去除细胞碎片或其他颗粒物质。

2.3 平衡色谱柱

用5-10个柱体积的结合缓冲液平衡该柱，直到流出液电导和pH不变。

用于纯化血浆蛋白质的常用结合缓冲液是10-20mM柠檬酸钠缓冲液，pH 7.4。由于在这些情况下肝素配体充当亲和配体，因此缓冲液中加入低浓度的NaCl以消除非特异性离子相互作用。在其他应用中，通常推荐使用10 mM 磷酸钠，pH 7.0或20 mM Tris-HCl，pH 8.0作为结合缓冲液。



2.4 上样

(1) 样品用平衡液配制，样品一定要离心或过滤后上样。盐浓度太大、粘度太大的样品需要处理后再上样。

(2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上，用平衡液洗去杂质和没有结合的蛋白，再选择一种洗脱液洗下目标产品。

(3) 待平衡缓冲液流至填料上方 2-3mm 处，用移液器上样（为避免冲出气泡，用玻璃杯引流或顺层析柱内壁加入），尽可能使样品不被过多的稀释。

(4) 待样品全部加入后（同样的，在填料上方 2-3mm 处），用平衡缓冲液洗 2 个柱体积，洗掉没有被结合的蛋白。

2.5 洗脱

不同的样品，吸附和洗脱方法不相同，可以根据相关的文献进行。通常通过增加缓冲液的离子强度来进行洗脱。最常使用 1.5-2 M NaCl, KCl 或 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 线性梯度或梯度洗脱。

3 在线清洗

先用 0.1M Tris-HCl pH7.0 缓冲液洗 3 个柱床体积，然后用 0.1M NaOH 含 2M NaCl 流洗 3 个床体积，最后用 20% 乙醇洗 3 个床体积即可。长时间用酸碱洗填料会是填料的吸附能力下降，所以清洗要尽量缩短时间。

4 保存

使用完的填料，用纯水彻底冲洗，最后保存在 20% 乙醇中，4-8°C 保存。

5 注意事项：

(1) 上样之前，样品必须经过膜过滤及去除色素，否则杂质及色素会被吸附到填料上，影响填料的正常使用。所有的缓冲液均需要用 0.45um 的过滤器过滤。

(2) 在使用过程中，避免使用高浓度的强酸强碱，酸和碱的浓度应低于 0.1 摩尔。碱会使流速变慢。

(3) 不同的样品，吸附和洗脱方法不相同，可以根据相关的文献进行。

瑞达恒辉所有产品仅用作科学研究，不得用于其他用途！销售产品行为均适用于我司官网所列用户协议条款。