



此说明仅限参考

肝素-琼脂糖凝胶 6FF

1 简介

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。

2 亲和填料特性

基质	6%的交联琼脂糖凝胶
配基	肝素
配基密度	2-4 mg/ml
吸附载量	2-3mg 抗凝血因子III (AT III) /ml
亲和填料的颗粒大小	45-165 μ m
最大流速*	300cm/h
pH范围	4-10
使用温度	4℃~常温
保存温度	+4~8℃
保存液体	20%乙醇

*层析柱50mm*60cm，柱床高度25cm，20℃

3 使用方法

肝素-琼脂糖凝胶 6FF 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。

3.1 装柱

(1) 让所有的材料和试剂达到室温。配制初始缓冲液（平衡液）和洗脱缓冲液。

(2) 根据柱子大小取所需量的凝胶，用去离子水清洗掉 20%乙醇，用初始缓冲液（按凝胶：缓冲液=3：1 的比例）配成匀浆。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

(3) 将柱内及柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位, 务必使底端无气泡。

(4) 用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内, 注意勿使产生气泡。打开柱子出口口, 使凝胶在柱内自由沉降, 连结好柱子顶端柱头。

(5) 打开蠕动泵, 让缓冲液用使用时流速的 1.33 倍的流速流过, 使柱床稳定 (注意压力不要超过填料最大耐压)。

3.2 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。

3.3 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。

3.4 上样

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

(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。

3.5 洗脱

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。

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。

4 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。

5 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℃保存。

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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com

邮箱: shyysw@sina.com

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。