

# HiSelect Heparin 6FF

## 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。

**HiSelect Heparin 6FF** 是一种中压预装柱, 填充 4.7 ml 的 **Heparin Beads 6FF** 介质。柱管由生物相容性聚丙烯制成, 不与生物分子相互作用。柱管两头都有堵头, 防止保护液的泄露。柱体标签上的箭头表示推荐的流向。预装柱具有标准接口, 可以适配商品化的各类中压色谱系统, 如 ÄKTA 等, 方便客户操作。

表 1. HiSelect Heparin 6FF 产品性能

性能	指标
规格	4.7 ml
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
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	4-12
柱尺寸 (内径×高度)	0.77×10 cm
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8 °C

## 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 0.22 μm 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

**HiSelect Heparin 6FF** 可以用各种常规的中压色谱系统, 以 ÄKTA 仪器使用为例介绍 **HiSelect Heparin 6FF** 使用方法。

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上堵头, 将层析柱连接至色谱系统中。再打开下口, 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。
- 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 0.1 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
HiSelect Heparin 6FF	SA024C47	1×4.7 ml
HiPur Heparin 6FF	SA024C20	1×20 ml

