

Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)

产品编号	产品名称	包装
P2165-1ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	1ml
P2165-5ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	5ml
P2165-20ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	20ml

产品简介:

- 碧云天的Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶), 由高质量的肝素(Heparin)与高度交联的6%琼脂糖共价偶联而成, 也称Heparin亲和填料或肝素亲和填料, 可快速、高效地分离对肝素具有亲和力的生物分子, 包括抗凝血酶III、凝血酶、凝血因子和其它血浆蛋白, 也可用于纯化脂蛋白、核酸酶、类固醇受体、细胞生长因子、干扰素、核酸结合蛋白、病毒等生物大分子。肝素琼脂糖凝胶广泛应用于不同蛋白质及病毒等的纯化, 且可以通过改变缓冲液中的盐浓度即可实现目的蛋白的结合、洗涤和洗脱。本产品也可以用于去除残留的核酸酶, 包括去除残留的RNase和DNase。
- 肝素(Heparin), 其钠盐的形式即肝素钠(Heparin sodium)比较常见, 是一种高度硫酸化的线性多糖, 主要由1,4糖苷键连接吡喃葡萄糖醛酸(L-艾杜糖醛酸、D-葡萄糖醛酸)和2-氨基-2-脱氧吡喃葡萄糖(氨基葡萄糖)残基重复单元组成, 平均分子量为15kDa左右[1]。肝素主要由肥大细胞和嗜碱性粒细胞等产生, 在于肝、肺、血管壁、肠黏膜、肥大细胞等含量较高, 其与肝素结合蛋白的相互作用调控着许多重要的生理过程, 例如调节补体级联活动、细胞分化、生长、迁移、炎症和病原体感染等[2-5]。肝素与大多数蛋白质的相互作用主要是依赖于肝素中高负电荷密度的磺酸基和羧基可以与蛋白中正电荷密度基团的碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸)形成离子键, 因此具有强亲和力; 部分蛋白质与肝素结合是由于肝素结构域可以与极性氨基酸(天冬酰胺和谷氨酰胺)形成氢键, 例如, 脑钠肽(Brain natriuretic peptide, BNP)可以与肝素相互作用主要是依赖于氢键; 此外, 肝素中L-艾杜糖醛酸具有灵活的构象, 可以形成特殊的结构域特异性地结合蛋白, 例如, 形成独特的类似核酸空间结构域可特异性结合核酸酶或形成独特的类似病毒受体结构域特异性结合病毒。
- 基于肝素的抗凝作用的生物学活性、因子类蛋白的亲和力、类核酸空间结构域和类病毒受体结构域等特点, 肝素琼脂糖凝胶在蛋白纯化领域内应用非常广泛, 可以特异性地纯化抗凝血酶III、凝血酶、凝血因子IX (FIX)、凝血因子XI (FXI)、载脂蛋白、核酸结合蛋白等; 用于纯化转录因子、核酸酶、DNA聚合酶和内切酶等; 用于病毒疫苗、病毒载体等的分离和纯化; 还可用于纯化细胞生长因子、干扰素等生物大分子。以纯化抗凝血酶III (Antithrombin III)为例, 本产品的实验流程参考图1。本产品也可以装柱后进行柱纯化。

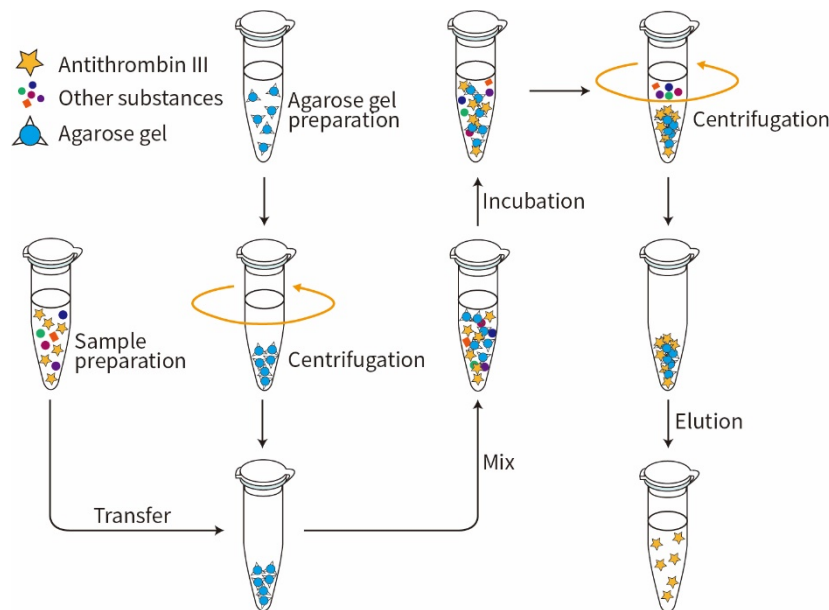


图1. 碧云天Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶) (P2165)的实验流程图。

- **本产品结合容量高。**与同类的很多产品相比, 本产品具有非常高的结合容量, 对复杂样品中抗凝血酶III、凝血因子和生长因子等生物分子可以快速进行分离纯化。本产品中Heparin Agarose为50%的凝胶悬浊液, 每毫升Heparin Agarose沉淀中偶联4mg Heparin, 可结合约 ≥ 2 mg抗凝血酶III, 可高效地进行免疫沉淀等实验。本产品用于细胞纤粘蛋白(Fibronectin)的结合效果参考图2。

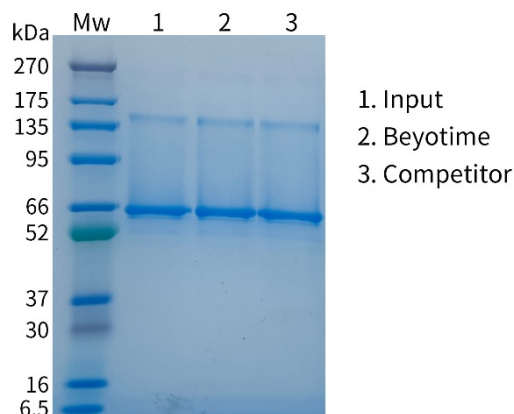


图2. 碧云天Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶) (P2165)用于细胞纤粘蛋白(Fibronectin)的结合效果图。泳道1为Input, 即为Fibronectin; 泳道2为本产品结合Fibronectin后的洗脱产物; 泳道3为B公司同类产品(Competitor)结合Fibronectin后的洗脱产物。图中约63kDa处的条带为Fibronectin的单体。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本产品特异性强。**本产品可特异性地结合抗凝血酶III、凝血因子、生长因子、载脂蛋白、核酸结合蛋白等, 获得的产物纯度高, 可进一步用于Western、ELISA、质谱分析等一系列后续的分析测试。
- 本产品的主要指标如下表:

Characteristics	Description
Product content	50% settled gel in specific protective buffer
Agarose structure	6% cross-linked agarose
Average particle size	45-165 μ m
Coupled ligand	Heparin
Ligand concentration	~4mg Heparin per ml settled gel
Binding capacity	Per ml settled gel: \geq 2mg antithrombin III (ATIII)
Specificity	Electrostatic effect
Application	Separation of biomolecules with an affinity for heparin, including antithrombin III, coagulation factors and other plasma proteins, DNA binding proteins, lipoproteins, protein synthesis factors, enzymes that act on nucleic acids, and steroid receptors, viruses et al.

- 本产品为50%凝胶悬液, 包装体积为总体积, 每毫升本产品中共含有0.5ml凝胶沉淀物。如果每个样品使用50 μ l琼脂糖凝胶悬液, 每毫升本产品可以用于20个样品反应。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P2165-1ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	1ml
P2165-5ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	5ml
P2165-20ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	20ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存, 一年有效。4 $^{\circ}$ C保存, 至少一个月有效。

注意事项:

- 本产品使用前要适当充分重悬, 即颠倒若干次使琼脂糖凝胶混合均匀, 混匀操作须轻柔, 不宜剧烈涡旋震荡等, 避免蛋白变性、琼脂糖凝胶破碎等。
- 本产品含有微量的防腐剂, 使用前宜先用TBS等适当溶液洗涤凝胶3次, 以充分消除防腐剂可能产生的干扰。
- 在免疫沉淀或纯化时, 建议设计阳性和阴性对照组。
- 蛋白样品收集后宜尽快完成纯化工作, 并应始终放置在4 $^{\circ}$ C或冰浴, 以减缓蛋白降解或变性。为有效抑制蛋白降解, 可以在蛋白样品中添加适量的蛋白酶抑制剂混合物, 例如碧云天的P1005/P1006蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 100X)、P1048/P1049蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)、P1010/P1011蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)、P1050/P1051蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 50X)等。
- 如果离心不能完全除去蛋白样品中的不溶物, 可以将样品溶液用0.45 μ m的滤膜过滤。酸性溶液洗脱或使用SDS-PAGE洗脱后的琼脂糖不可重复使用。为了尽量减少肝素的脱落, 无论是手动操作还是自动操作, 低pH洗脱步骤都不要超过10分钟。
- 高浓度的DTT、巯基乙醇、盐酸胍等对本产品与配体的结合可能有一定影响, 但Western及IP细胞裂解液(P0013)、RIPA裂解液(P0013B/C/D)或NP-40裂解液(P0013F)等都完全适用。碧云天生产的不同裂解液的主要特点和差异, 以及如何选择裂解液可参考

我们的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/lysis-buffer.htm>。

- 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 缓冲液的准备。

参考下表,根据具体的实验用途配制相应的缓冲液。

Buffer	Components
Binding Buffer	50mM Tris-HCl (pH8.0)
Elution Buffer	50mM Tris-HCl (pH8.0), 2M NaCl

注1:所用水和缓冲液在使用之前建议用0.22 μ m或0.45 μ m孔径滤膜过滤,以减少杂质,提高蛋白纯化效率。

注2:推荐的缓冲液适用于大多数目标蛋白的纯化,也可根据目的蛋白的稳定性更换其它缓冲体系。对于特殊样品,需自行进行适当的优化。

注3:在Binding Buffer中添加NaCl浓度不宜超过150mM; Elution Buffer中NaCl可以更换为其它盐溶液(如KCl、CaCl₂、NH₄Cl、(NH₄)₂SO₄等)。

2. 肝素琼脂糖凝胶准备。如下仅以小量样品的纯化为例进行说明,如果有大量样品需要进行柱纯化,可以适当参考进行。

a. 取琼脂糖凝胶并去除上清。轻轻重悬肝素琼脂糖凝胶,尽量形成均匀的凝胶悬浊液,取20-100 μ l置于BeyoGold™ 1.5毫升离心管(无色, Nuclease free) (FTUB015)中待用。注:使用大孔径吸头(如用剪刀剪去部分吸头)吸取凝胶悬浊液会比较方便。

b. 洗涤琼脂糖凝胶。加入Binding Buffer至最终体积为约0.5ml,轻轻重悬肝素琼脂糖凝胶。600 \times g在4 $^{\circ}$ C离心5分钟,小心去除上清,不要吸到凝胶,完成一次洗涤步骤。然后再按照前述洗涤步骤,洗涤2次。最终去除上清,并根据后续的实验目的,用适量的适当溶液(参考步骤3a)重悬肝素琼脂糖凝胶。

注1:通常,每个样品的琼脂糖凝胶用量约为20-100 μ l。具体可根据目标蛋白浓度的多少,参考产品主要指标表中琼脂糖凝胶的‘Binding capacity’,计算目标蛋白的加入量。根据不同的实验目的,例如可以考虑目标蛋白的加入量为琼脂糖凝胶载量的1-2倍,使琼脂糖凝胶饱和,即把琼脂糖凝胶充分利用,此时通常实验目的是分离纯化;再例如加入琼脂糖凝胶的载量是待分离纯化的目标蛋白的2-3倍,以确保目标蛋白能被充分分离纯化,此时通常实验目的是为了对样品中的目标蛋白进行定量分析。

注2:多个样品时,可以取总琼脂糖凝胶量合并洗涤处理后再平分到各个样品管中,洗涤液用量须相应增加。

注3:也可参考相关方法进行填柱并使用重力柱法或FPLC法进行纯化。

3. 目标蛋白的结合。

a. 琼脂糖凝胶重悬。按步骤2b,用2倍原始琼脂糖凝胶体积的Binding Buffer重悬肝素琼脂糖凝胶。

b. 蛋白吸附。加入适量用Binding Buffer稀释的目标蛋白,轻轻重悬肝素琼脂糖凝胶,置于旋转混合仪上,室温孵育30-60分钟。注:如果需要,可以在2-8 $^{\circ}$ C旋转混合1小时,以防止目标蛋白降解。推荐使用BeyoShaker™ 数字式翘板摇床(E6673)或BeyoVortex™ 基础型旋转混合仪(E6800)。

c. 洗涤。取1ml Binding Buffer加入肝素琼脂糖凝胶中,轻轻重悬肝素琼脂糖凝胶,600 \times g在4 $^{\circ}$ C离心5分钟,去除上清,不要吸到凝胶。再重复洗涤3次。

4. 洗脱。

根据目标蛋白的浓度及后续实验要求,加入100-200 μ l Elution Buffer,轻轻翻转离心管数次,摇床摇动洗脱10分钟,置于离心机中600 \times g在4 $^{\circ}$ C离心5分钟,收集洗脱液转移到新的离心管中,即为目标蛋白。

参考文献:

1. Casu B. Adv Carbohydr Chem Biochem. 1985. 43:51-134.
2. Fannon M, Forsten KE, Nugent MA. Biochemistry. 2000. 39(6):1434-45.
3. Hoogewerf AJ, Kuschert GS, Proudfoot AE, Borlat F, Clark-Lewis I, et al. Biochemistry. 1997. 36(44):13570-8.
4. Capila I, Hernáiz MJ, Mo YD, Mealy TR, Campos B, et al. Structure. 2001. 9(1):57-64.
5. Harrop HA, Coombe DR, Rider CC. AIDS. 1994. 8(2):183-92.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P2015-2ml	Protein A Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	2ml
P2015-10ml	Protein A Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	10ml
P2015-50ml	Protein A Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	50ml
P2015-200ml	Protein A Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	200ml
P2017-2ml	Protein G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	2ml
P2017-10ml	Protein G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	10ml
P2017-50ml	Protein G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	50ml
P2017-200ml	Protein G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	200ml
P2019-2ml	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	2ml

P2019-10ml	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	10ml
P2019-50ml	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	50ml
P2019-200ml	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	200ml
P2157-1ml	Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶)	1ml
P2157-5ml	Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶)	5ml
P2157-20ml	Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶)	20ml
P2159-1ml	Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶)	1ml
P2159-5ml	Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶)	5ml
P2159-20ml	Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶)	20ml
P2165-1ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	1ml
P2165-5ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	5ml
P2165-20ml	Heparin Agarose (肝素琼脂糖凝胶)	20ml

Version 2024.05.05