

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

肝素磁珠

Magrose Beads Heparin

产品描述

TargetMol 肝素磁珠产品表面偶联了肝素，带有大量负电性硫酸根离子基团，在一定 pH 值下，与带正电的蛋白具有强的结合能力，同时肝素能够通过特异性亲和与生长因子及抗凝血酶 AT III 结合，因此，可通过磁性分离的方式快速、高效地从血浆中一步纯化出目标因子。

TargetMol 肝素磁珠无需对粗蛋白样品进行多次长时间的高速离心及滤膜过滤、无需控制流速、不需要昂贵的层析设备，对于熟练的操作者而言，短时间内就能完成高纯度目的蛋白的提取，且能轻松实现多个样品的平行处理，实现高通量的蛋白纯化。

产品特点

- 结合位点丰富，与配体的特异性结合量高。
- 良好的分散性和重悬性，提高操作的便捷性。
- 良好的物理化学稳定性，保障重复性效果。
- 高磁响应性，节省操作时间。

产品信息

肝素磁珠	特性
粒径	30-150 μm
表面基团含量	~3 mg Heparin/mL Gel
蛋白结合量 ^a	2-3 mg 抗凝血酶 III/mL Gel
悬液浓度 ^b	10% (V/V) 磁珠悬液
保存溶液	20% (V/V) 乙醇

注：a) 磁珠蛋白结合量与目标蛋白特性相关，此处仅做参考值。b) 1 mL 磁珠悬液中含有 100 μL 磁珠。

产品应用

- 适用于抗凝血因子 III、凝血因子、核酸结合蛋白、脂蛋白、干扰素、类固醇受体、凝血酶及类凝血酶等生物大分子的分离纯化。

操作说明

以纯化人血浆中抗凝血酶 III 为例：

1. 缓冲液准备

以下为常用的缓冲液成分，适用于多数蛋白的纯化，使用时可根据需要进行调整。缓冲液在使用前最好使用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤除菌。

- 1) Binding Buffer: 50 mM Tris-HCl, pH 8.0。
- 2) Elution Buffer: 50 mM Tris-HCl, 1~2 M NaCl, pH 8.0。

2. 样品处理

取 1 mL 人血浆，加入至 1.5 mL EP 管中，加入 500 μ L Binding Buffer，充分混匀样品。

3. 磁珠预处理

- 1) 将肝素磁珠用漩涡振荡器振荡充分混匀，取 1 mL 10% (V/V) 磁珠悬液置于新的 1.5 mL EP 管中。
- 2) 将 EP 管放入磁性分离器，静置 1 min，进行磁性分离，吸去上清液，取下 EP 管。
- 3) 用 1 mL Binding Buffer 洗涤 2 次，磁性分离后保留磁珠，准备用于后续抗体分离。

4. 蛋白吸附

- 1) 将步骤 1 处理的样品溶液加入步骤 2 预处理好的磁珠管中。
- 2) 漩涡振荡混匀，置于室温 (约 25°C) 下，在垂直混合仪中混合 15~30 min，使样品与磁珠充分接触吸附。
- 3) 结束后进行磁性分离，吸去上清液。

5. 磁珠洗涤

- 1) 向 EP 管中加入 1 mL Binding Buffer，漩涡振荡 1 min 使磁珠重悬。
- 2) 进行磁性分离，吸去上清液，重复洗涤 3 次。

注：根据 SDS-PAGE 结果，可在 Binding Buffer 中添加适量 NaCl，以去除非特异性吸附蛋白，提高目标蛋白浓度。

6. 目标蛋白洗脱

- 1) 在洗涤后的磁珠中加入 0.2 mL Elution Buffer，用移液器轻轻吹打或涡旋振荡使磁珠迅速重悬。
- 2) 在室温 (约 25°C) 下垂直混合 10~15 min 后进行磁性分离，收集上清液至新的 EP 管中。

7. 磁珠再生

- 1) 向 EP 管中加入 1 mL 纯化水，漩涡振荡重悬磁珠，进行磁性分离，吸去上清液，重复该操作 3 次。
- 2) 接着用 Binding Buffer 洗涤磁珠 3 次，保证其清洁状态。

8. 在位清洗 (CIP)

磁珠经过多次使用后，可能会有沉淀蛋白、强疏水性蛋白以及脂蛋白等杂质非特异性吸附到磁珠表面，影响其结合效率。为保证磁珠的持续高效使用，建议进行在位清洗 (CIP, Clean-In-Place) 操作。通过定期清洗，可以有效去除这些杂质，延长磁珠的使用寿命并确保纯化效果。

- 1) 依次使用 0.1 M NaOH、8 M 尿素、纯化水和 Binding Buffer 洗涤磁珠 2 次。
- 2) 最后加入 1 mL Storage Buffer (20%乙醇)，重悬磁珠并保存在 2~8°C。

保存条件

4°C，2 年。

注意事项

1. 避免对磁珠进行冷冻、干燥和高速离心等操作。
2. 为了减少磁珠的损失，每次磁性分离的时间不应少于 1 min。
3. 从磁珠保存管中取出磁珠之前，应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
4. 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管，以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
5. 磁珠与溶液混合过程中，如果溶液粘稠导致翻转离心管无法重悬磁珠，可以使用移液器吹打或瞬时漩涡混合，使磁珠充分重悬。
6. 可根据需求，用纯化水或缓冲液磁吸洗涤磁珠 2~3 次，去除保存液中乙醇。
7. 盐浓度与 pH 值均会影响特异性蛋白的结合与洗脱，建议用户自行摸索不同蛋白的结合和洗脱条件，以保证蛋白纯化量和纯度。
8. 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。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

