



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

NHS 活化琼脂糖凝胶 4FF

产品简介:

NHS 活化的琼脂糖树脂将蛋白质简单有效地共价固定到珠粒-糖链载体上, 为抗体、抗原或其他生物分子的亲和纯化提供了有价值的方法。活化的 (sefinose) 琼脂糖含有能够与蛋白质或其他分子上的伯胺反应形成稳定的酰胺键的 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 官能团。耦合反应在 pH 7~9 的无胺缓冲液中进行。不管配体的分子量或等电点 (PI) 耦合反应的效率均大于 80%。一旦配体被固定, 所制备的树脂即可以被应用到多重亲和纯化程序中。交联的串珠塞糖具有快速的线性流动电位, 使其可用于重力流和中低压应用中。

特征参数:

性能	指标
组成	4% 琼脂糖
载量	>10 mg IgG/ml 基质
粒度范围	45~165 μ m
最大压力	0.3 MPa , 3 bar
储存液	100% 异丙醇

储存:

室温下运输, 2-8°C 下储存, 不可冻存。

蛋白配体固定过程:

Buffer 的准备:

所有的水和缓冲液均用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 的滤膜进行过滤。

所需附加材料:

1. 空柱以及兼容的离心机/收集管。
2. 洗涤液: 1 mM 盐酸。
3. 偶联液: 0.2 M NaHCO₃, 0.5 M NaCl, pH 8.0 或其他无胺缓冲液。



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

Note: 偶联液可以选择碳酸盐、磷酸盐等不含氨基的缓冲液体系。缓冲液体系中加入一定浓度的盐离子减少非特异性吸附

4. 洗涤液 1: 0.1 M 乙酸-乙酸钠, 0.5 M NaCl, pH 3.0。

5. 洗涤液 2: 0.1 M Tris-HCl, 0.5 M NaCl, pH 8.0。

6. 保护液: 包含 20%乙醇的 1X PBS。

7. 含氨基的蛋白或者多肽: 在 2~3 ml 偶联液中溶解 1~20 mg 蛋白或 1~2 mg 多肽。对于已经在溶液中的蛋白质, 在偶联液中稀释 4 倍, 或将脱盐/透析稀释到偶联液中。彻底清除含有伯胺的缓冲液 (如 Tris 或甘氨酸)。

8. 封闭液: 0.5 M 乙醇胺, 0.5 M NaCl, pH 8.3 或 0.1 M Tris-HCl, pH 8.5。

抗原偶联过程:

颠倒混匀琼脂糖凝胶几次。

1、垂直放置含有 NHS 活化树脂的柱子, 平衡柱至室温, 使树脂沉降。用洗涤液通过抽滤洗涤三次, 再用耦合缓冲液洗涤一次。

Note: 在实验过程中不能使树脂床变干, 通过吹打或震荡使结块溶解, 可以通过遇冷溶液快速清洗预防水解作用。

2、添加溶解好的蛋白样品到清洗完毕的 NHS 活化的琼脂糖中 (NHS 活化琼脂糖 4 FF 体积: 样品溶液体积=1: 1~2)。

3、混合震荡反应在 28°C 进行 2~4 h, 或者 4°C 过夜。

Note: NHS-Activated Sefinose™ 4 FF 必须是悬浮状态, 否则会影响偶联效率。

4、收集耦合样品, 以便检测耦合效率。填料用去离子水进行洗涤。加入两倍柱体积的封闭液于 28°C 震荡反应 1 h。

5、流干封闭液并去除, 加入三倍柱体积的去离子水洗涤树脂。树脂洗涤分别通过洗涤液 1、去离子水、洗涤液 2、去离子水按顺序重复洗涤两次, 然后加入相同体积的保护缓冲液, 于 2~8°C 储存。