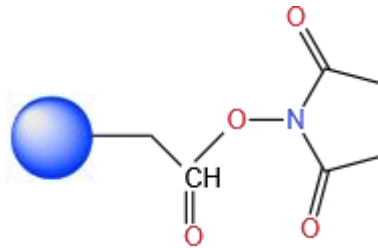


NHS 琼脂糖磁珠, 20-45 μm

Cat BMA-9

OVERVIEW

NHS 活化的琼脂糖磁珠 (Magarose-NHS) 将蛋白质简单地共价固定到磁珠载体上, 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。活化的琼脂糖磁珠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, 所制备的琼脂糖磁珠即可以被应用到多重亲和纯化程序中。



PRODUCT FEATURES

Product Name	Magarose-NHS
Article Number	BMA-9
Bead Concentration	25% (v/v) in 100% 异丙醇
Ligand Density	~50 μmol NHS/ ml 磁珠
Medium	6%交联磁性琼脂糖
Particle Size	20-45 μm
Ligand Binding	>20 mg IgG/ml 磁珠
Storage	2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存一年

注: 磁珠蛋白结合量与目标蛋白特性相关, 此处仅作参考值。

INSTRUCTIONS

1. 缓冲液

所有的水和缓冲液均用 0.22 μm 或 0.45 μm 的滤膜进行过滤。

- ① Washing Buffer A: 1 mM 盐酸, 使用前冷却到 4 $^{\circ}\text{C}$;
- ② Coupling Buffer A: 100 mM 2-吗啉乙磺酸 MES, pH 4.8 (用于等电点小于 7 的生物分子的偶联);

北京百欧泰生物科技有限公司

Tel: 400-669-8850 Email: info@biotyscience.com

Address: 北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号

- ③ Coupling Buffer B: 200 mM NaHCO₃, pH 8.3 (用于等电点大于 7 的生物分子的偶联) ;
- ④ Blocking Buffer: 3 M 乙醇胺, pH 9.0;
- ⑤ Storage Buffer: 含质量分数为 0.05%叠氮化钠的 PBS 缓冲液或者根据客户自己需求采用其他缓冲液。

2. 流程关键点

- 1) 其中磁珠洗涤要严格按照说明书采用冷却的 Washing Buffer A (①) 快速洗涤, 以防磁珠在洗涤过程中 NHS 基团水解;
- 2) 蛋白偶联过程中, 首先要通过实验确定合适的 Coupling Buffer (主要包括 Coupling Buffer A (②)、Coupling Buffer B (③)、50 mM 硼酸溶液 pH 8.5、100mM 磷酸缓冲液, 100mM NaCl, pH7.4 这四种);
- 3) 确定合适的 Coupling Buffer 后, 再以此 Coupling Buffer 为基础, 确定合适的偶联蛋白浓度, 因为蛋白浓度越高, 偶联到磁珠上的蛋白的量会越大 (这是由于 NHS 基团跟蛋白偶联和 NHS 基团本身水解是一对竞争反应)。当然此处要综合考虑使用性能和成本, 有些客户偶联少量的蛋白便可满足使用需求, 这时采用低浓度的蛋白便可, 这样可以降低成本。
- 4) 封闭这一步可以采用 3 M 乙醇胺, 也可使用 Tris 缓冲液 (100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, pH 8.0), 封闭时间不得低于 2 h, 如果化学封闭后背景仍然很高, 还可以额外加一步 BSA 封闭。

3. 蛋白偶联操作步骤

以下操作过程以取磁珠样品 400 μ L, 采用 1.5 mL EP 管为例介绍。用户可根据自身需求按比例调整。

蛋白溶液配制: 取适量待偶联蛋白用 Coupling Buffer 溶解, 配成浓度为 ≥ 3.0 mg/mL 的蛋白溶液。已经保存于 buffer 中的蛋白, 需要通过透析或者脱盐的方法彻底除去原有 buffer 里含伯胺基的物质, 然后再用 Coupling Buffer 配成浓度为 ≥ 3.0 mg/mL 的蛋白溶液, 将配制好的蛋白溶液于 4°C 保存备用。

注: (1)为达到更好的性能, 蛋白浓度 ≥ 3.0 mg/mL, 这样偶联效率会更高, 此处需综合考虑成本和使用要求; (2)蛋白溶液中不能含有带伯氨基的成分, 比如 Tris, 甘氨酸, 明胶, BSA 等;

- 1) 取 400 μ L 25%磁珠悬浮液于 1.5 mL EP 管中。磁分离, 去除上清液。
注: 磁珠取样前要反复颠倒、使用涡旋振荡器使其混合均匀, 以保证实验的同一性, 每取一次样需要重新混匀。
- 2) 加 1 mL 2~8°C 的 Washing Buffer A (①) 于离心管中, 涡旋 15 s, 使磁珠混合均匀。将 EP 管置于磁性分离架内, 富集磁珠, 去除上清液。
- 3) 加 200 μ L 蛋白溶液于 EP 管中, 涡旋 30 s, 使其混合均匀。
注: 磁珠洗涤后要立即加入蛋白溶液。
- 4) 将 EP 管涡旋 15 s, 置于垂直混合仪上, 室温混合 2~4 h。如果垂直混合不均匀, 则反应前 30 min, 每隔 5 min 取下 EP 管涡旋 15 s。此后, 每隔 15 min, 取下 EP 管涡旋 15 s。
注: 如有需要可以在 4°C 反应过夜。

- 5) 采用磁性分离架富集磁珠，保存上清。加 1 mL Blocking Buffer (④) 于 EP 管中，涡旋 30 s，将 EP 管置于磁性分离架内，富集磁珠，弃上清液。
注：Blocking Buffer (④) 除了试剂盒中提供的 3 M 乙醇胺外，也可以使用 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, pH 8.0 等其它封端试剂。
- 6) 加 1 mL Blocking Buffer (④) 于 EP 管中，涡旋 30 s，将 EP 管置垂直混合仪中室温反应 2 h。将 EP 管置于磁性分离架内，富集磁珠，弃上清液。
- 7) 加 1 mL 超纯水于 EP 管中，充分混合，用磁力架富集磁珠，弃上清液。
- 8) 加 1 mL Storage Buffer (⑤) (比如含 0.05%叠氮化钠的 PBS 缓冲液，或者客户根据自己实际需求选合适的保存溶液) 于 EP 管中，充分混合，用磁力架富集磁珠，弃上清液。重复该操作 2 次。
- 9) 加入 400 μ L Storage Buffer (⑤) 于 EP 管中，充分混合，4°C 保存备用。
注：最终偶联蛋白的磁珠浓度为 25% (v/v)。

Contact Us

QQ:499854788

3494243873

WeChat: 13681256816; 15511114213

Email: info@biotyscience.com

Tel: 400-669-8850

15511114213; 13681256816