



# NHS-Activated Magarose Beads

## 目录

1. 产品介绍.....	1
2. 产品使用流程.....	1
3. 纯化流程.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	2

## 1. 产品介绍

**NHS-Activated Magarose Beads** 是一种预活化的琼脂糖磁性微球，可以直接用于含氨基的蛋白或多肽的耦联。预活化介质可以根据需要制备成特殊的亲和介质，快速有效地从复杂体系中一步纯化相应的物质。

表 1. NHS-Activated Magarose Beads 产品性能

项目	性能
基质	磁性琼脂糖微球
偶联量	>10 mg Rabbit IgG/ml 磁珠
微球粒径	30-100 μm
磁珠体积	磁珠体积占悬浮液体积的 20%
储存缓冲液	100%异丙醇
储存温度	-20℃

## 2. 产品使用流程

### 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。

清洗液: 1 mM HCl

偶联液: 0.2 M NaHCO<sub>3</sub>, 0.5 M NaCl, pH8.0

封闭液: 0.5 M 乙醇胺, 0.5 M NaCl, pH8.3 或 0.1 M Tris, pH8.5

清洗液 1: 0.1 M 乙酸-乙酸钠, 0.5 M NaCl, pH3.0

清洗液 2: 0.1 M Tris-HCl, 0.5 M NaCl, pH8.0

保护液: 含 20%乙醇的 1×PBS

**注:** 1.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。

2.当偶联样品为抗体时, 可选择 1×PBS, 0.02%NaN<sub>3</sub> 或者 1×PBS, 0.02%Proclin 300 作为偶连后填料的保护液。

### 2.2 样品准备

样品用偶联液溶解, 浓度约 5-10 mg/ml。

### 2.3 样品偶联

1) 取适量的 **NHS- Activated Magarose Beads**, 用 1 mM HCl 清洗液抽滤清洗三次, 用偶联液清洗一次。**注:** 磁珠不可抽太干, 以免结块, 万一出现结块现象可振荡或吹打分散开。可以选用预冷的溶液快速清洗, 减少预活化介质的水解。

2) 溶解好的样品加入至清洗好的 **NHS- Activated Magarose Beads** 中, **NHS- Activated Magarose Beads**: 样品溶液体积比约 1: 1-2。

3) 28℃振荡反应 2-4 h 或 4℃过夜。**注:** 确保磁珠悬浮起来, 否则会大大影响偶联效率。

4) 反应完后收集偶联样品, 以便检测偶联效率。去离子水清洗填料, 加入 2 倍柱体积的封闭液, 28℃振荡反应 1 h。

**注:** 偶联后无法用紫外吸收测定上清蛋白浓度, 建议用电泳或者 BCA 定量法检测偶联效率。

5) 将上述反应体系取出, 流干其中的封闭液, 用 3 倍柱体积的去离子水清洗磁珠, 清洗液 1、去离子水、清洗液 2 和去离子水重复冲洗 2 次, 然后保存在等体积的保护液中, 于 2-8℃保存。





### 3. 纯化流程

下面以磁珠偶联抗体后，纯化抗原为例，介绍纯化步骤。

#### 3.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。

**平衡/洗杂液:** 0.15 M NaCl, 20 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.0

**洗脱液:** 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

**中和液:** 1 M Tris-HCl, pH 8.5

#### 3.2 磁珠预处理

将偶联好的磁珠混合均匀，取计算量（根据上样量和磁珠载量计算）的磁珠悬浮液，转移至离心管中，放置在磁分离器上，静置大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。再将离心管从磁分离器上取下来，加入与悬浮液等体积的平衡液，使用枪头反复吹打 5 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液，重复洗涤 2 次。

#### 3.3 样品吸附

在步骤 3.2 预处理的磁珠中加入样品溶液，漩涡振荡均匀，在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管，促使样品和磁珠充分接触并吸附，混合 30 min 以上（具体时间根据结合效果调整），置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。

#### 3.4 洗杂

向离心管中加入 5 倍磁珠体积的洗杂液，振荡悬浮，置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。该操作重复两次。

#### 3.5 洗脱

在上述离心管中加入 3-5 倍磁珠体积的洗脱液，用移液器吹打 5 次，然后在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管，5-10 min 后，置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸取上清液，收集洗脱组分，即为目标蛋白。

#### 3.6 洗脱组分中和

向洗脱组分中加入洗脱液十分之一的中和液，调节 pH 值至 7.0-8.0。

#### 3.7 磁珠保存

使用后的磁珠用 1 ml 洗脱液重悬磁珠，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。该操作重复两次。再加入 1 ml 平衡液，悬浮磁珠，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。再按照 4 倍磁珠体积加入步骤 2.1 中的保护液，置于 2~8 $^{\circ}\text{C}$  保存。

### 4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
NHS-Activated Magarose Beads	SM031001	1 ml
	SM031005	5 ml
	SM031025	25 ml
	SM031100	100 ml
	SM03101L	1 L
NHS-Activated MagPoly Beads	SM030001	1 ml

