

NHS-Activated MagPoly Beads

1 产品介绍

NHS-Activated MagPoly Beads 是一种预活化的聚合物磁性微球，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。具体性能见表 1。

表 1. NHS-Activated MagPoly Beads 产品性能

项目	性能
基质	聚合物磁性微球
偶联量	>10 µg IgG/mg 介质
磁珠浓度	10 mg/ml
微球粒径	1 µm
储存缓冲液	100% 异丙醇
储存温度	-20°C

2 使用方法

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 NaHCO₃, 0.5 M NaCl, pH 8.0

封闭液：0.5 M 乙醇胺, 0.5 M NaCl, pH 8.3 或 0.1 M Tris, pH 8.5

清洗液 1: 0.1 M 乙酸-乙酸钠, 0.5 M NaCl, pH 3.0

清洗液 2: 0.1 M Tris-HCl, 0.5 M NaCl, pH 8.0

保护液：PBS, 0.01% Tween-20, 0.02% NaN₃

注：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。

2.2 样品准备

样品用偶联液溶解，浓度约 5-10 mg/ml。

2.3 抗原偶联

1) 取适量的 **NHS-Activated MagPoly Beads**，吸去保护液，用 1 mM HCl 清洗液清洗一次，再用偶联液清洗一次。

注：磁珠加入清洗液混匀后立刻放在磁力架上吸附，取走上清。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 MagPoly Beads** 中。

3) 28°C 振荡反应 2-4 h 或 4°C 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。去离子水清洗磁珠，加入初始磁珠悬浮液 2 倍体积的封闭液，28°C 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。

将上述反应体系取出，流干其中的封闭液，用 3 倍悬浮液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，然后以 10 mg/ml 的浓度保存在保护液中，于 2-8°C 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 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

平衡/洗杂液：0.15 M NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, 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（后文均以 100 μl 为例），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，加入与所取磁珠悬浮液等体积（100 μl）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

向离心管中加入初始磁珠悬浮液 5 倍体积（500 μl）的洗杂液，振荡悬浮，混合 1-2 min，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。

3.5 洗脱

在上述离心管中加入 3-5 倍悬浮液体积（300-500 μl）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体积 1/10 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。加入步骤 2.1 中的保护液至磁珠浓度为 10 mg/ml，置于 2~8℃ 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
	SM030005	5 ml
	SM030010	10 ml
	SM030100	100 ml