



此说明仅限参考

NHS活化琼脂糖凝胶4FF

1 简介

NHS 活化琼脂糖凝胶 4FF 是经过 N-羟基琥珀酰亚胺活化的快流速纯化介质，适用于偶联蛋白质、多肽、核酸等含有氨基的生物分子。在生物医药纯化工艺中经过反复的验证，得到了广泛的应用。

此填料有如下特点：

应用广泛，可适用于偶联含氨基的抗体和小分子蛋白/多肽。

偶联简单、灵活、快速、有效，能高效的维持生物分子的生物学活性及稳定性。

流速快、产率高、易于放大。

2 性能参数

基质	4%的交联琼脂糖凝胶
配体密度	10-15 $\mu\text{mol/ml}$ 介质
介质颗粒大小	45-165 μm
最大流速	200cm/h
最大耐压	0.3MPa, 建议工作压力不超过0.2MPa
pH范围	3-12 (长期) 2-13 (短期)
化学稳定性	0.1M NaOH

*检测条件：层析柱 16mm \times 200mm *柱床高 5cm, 25 $^{\circ}\text{C}$

3 Buffer 的准备

所有的水和缓冲液均用 0.22 μm 或 0.45 μm 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：0.2M NaHCO_3 , 0.5M NaCl , pH8.3 或其他无胺缓冲液。

注意：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: 0.1M 乙酸-乙酸钠, 0.5M NaCl , pH3.0。



5. 洗涤液 2: 0.1M Tris-HCl, 0.5M NaCl, pH8.0。
6. 保护液: 包含 20%乙醇的 1×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, 在耦联液中稀释 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: 0.5M 乙醇胺, 0.5M NaCl, pH8.3 或 0.1M Tris-HCl, pH8.5。

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 活化琼脂糖凝胶的柱子, 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。(注意: 在实验过程中不能使树脂床变干。)
- 2、添加溶解好的蛋白样品到清洗完毕的 NHS 活化的琼脂糖凝胶中 (NHS 活化琼脂糖凝胶 4FF 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。(注意: NHS 活化琼脂糖凝胶 4FF 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。

瑞达恒辉所有产品仅用作科学研究, 不得用于其他用途! 销售产品行为均适用于我司官网所列用户协议条款。