

## NHS-Activated MagBeads NHS 活化磁珠

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
NHS-Activated MagBeads NHS 活化磁珠	20563ES03	1 mL
	20563ES08	5 mL

### 产品描述

NHS-Activated MagBeads 是一种预活化的聚合物磁性微球，表面为 NHS 基团修饰，能够与含氨基的蛋白或多肽的偶联，其主要用于亲和纯化或者分析检测抗体、抗原和其他生物分子。为任何所需蛋白质偶联到磁珠表面提供了一种便利的方式。与传统的羧基、氨基磁珠相比，表面含 NHS 基团的磁珠无需事先采 EDC/NHS 或戊二醛进行活化，只需简单地将含氨基的生物配体溶解于偶联缓冲液中，将蛋白溶液与磁珠孵育 2-4 h 便可将生物配体，通过 NHS-酯化学共价偶联到磁珠上。这一过程不需要危险化学品或冗长的反应方案，具有操作简单、偶联条件温和、生物配体偶联快速高效的优点。

活化的磁珠含有能与伯胺反应以形成稳定的酰胺键的 N-羟基-琥珀酰亚胺 (NHS) 功能基团。一旦它们共价连接，固定的蛋白不会从磁珠表面浸出。在实验中使用制备的磁珠时，非特异性结合可忽略不计，因为在偶联程序中，非反应 NHS-酯基团被彻底封闭。NHS 活化磁珠可通过手动磁力架进行偶联和处理。

该磁珠适用于含氨基的蛋白、抗体、酶、多肽、核酸等生物分子的共价偶联。偶联后，制备的磁珠可应用于免疫检测、免疫沉淀、免疫共沉淀、蛋白/抗体分离纯化等实验。该产品生物配基偶联效率高，可高效简单偶联且共价偶联稳定，可避免抗体与目标蛋白的共洗脱，其实际使用效果可替代 DynaBeads Antibody Coupling kit。

### 产品性质

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	1µm
储存缓冲液	100%异丙醇

### 运输和保存方法

冰袋运输。-20°C 储存，有效期 2 年。

### 注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 本产品仅作科研用途！

### 使用方法

#### 一、缓冲液配制

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 µm 或 0.45µm 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：PBS, 0.01% Tween-20, 0.02% NaN<sub>3</sub>

【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。

## 二、样本制备

样品用偶联液溶解，浓度约 5-10 mg/ml。

## 三、抗原偶联

1. 取适量磁珠，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。磁珠加入清洗液，混匀后立刻放在磁力架上吸附，吸弃上清。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磁珠中，磁珠：样品溶液体积比约 1:1-2。
3. 28°C 振荡反应 2-4 h 或 4°C 过夜。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 2 倍磁珠体积的封闭液，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。**

5. 将上述反应体系取出，流干其中的封闭液，用 3 倍磁珠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。

## 四、纯化流程

以磁珠偶联抗体，纯化抗原为例的纯化步骤。

### 4.1 缓冲液的准备

**【注】**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 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 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

**4.2 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。

**4.3 样品吸附** 在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，使样品和磁珠充分接触并吸附，混合 30 min 以上，置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。

**4.4 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。

**4.5 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。

**4.6 洗脱组分中和** 向洗脱组分中加入洗脱体积十分之一的中和液，调节 pH 值至 7.0-8.0。

**4.7 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。加入保护液至磁珠浓度为 10 mg/mL，置于 2-8°C 保存。