



Epoxy-Activated Beads 6B

目录

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

1. 产品介绍

Epoxy- Activated Beads 6B 是一种环氧活化的琼脂糖微球，可以直接用于含氨基、巯基和羟基的蛋白和样品的偶联。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. **Epoxy- Activated Beads 6B** 产品性能

项目	性能
基质	6%琼脂糖微球
活性基团密度	30-40 $\mu\text{mol/ml}$ 介质
粒径范围	45-165 μm
最大压力	0.1 MPa, 1 bar
储存缓冲液	100% 1,4-二氧六环
储存温度	4-30°C

2. 使用流程

2.1 缓冲液的准备

偶联液：0.1 M Na_2CO_3 , pH8.5-10.0

封闭液：1 M 乙醇胺, pH8.0

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 1XPBS

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

下面以偶联抗体纯化抗原为例，介绍偶联及后续纯化步骤。

- 1) 取适量的 **Epoxy-Activated Beads 6B**，去除保护液，切勿抽干，去离子水清洗三次，用偶联液清洗一次。
- 2) 将溶解好的样品中溶解后转入清洗好的 **Epoxy-Activated Beads 6B** 中，填料：样品溶液体积比约为 1: 1-2 (V/V)。
- 3) 25-40°C 振荡混合反应 24 h。**注：**确保填料悬浮起来，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。偶联液清洗一遍。
- 5) 加入等体积的封闭液，37°C 振荡混合反应 1 h。
- 6) 将上述反应体系取出，流干其中的溶液，用 3 倍柱体积的去离子水清洗填料，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°C 保存。

2.4 重力层析柱的装填

- 1) 取合适规格的重力层析柱，装入下垫片，加入适量纯水润洗柱管和垫片，关闭下出口。
- 2) 将偶联好的填料混合均匀，用枪头吸取适量浆液加入至重力柱中，打开下出口流干保护液。
- 3) 加入适量纯水冲洗介质，待柱管中液体重力流干后，关闭下出口。
- 4) 装入润洗后的上垫片，确保垫片与填料之前没有空隙，且保持水平。
- 5) 装填好的重力柱可以直接加入平衡液进行平衡。

2.5 样品纯化

2.5.1 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

2.5.2 孵育法纯化

- 1) 根据纯化的样品量，取适量偶联好的填料加入层析柱中，重力流干保护液。
- 2) 加入 5 倍介质体积的平衡液清洗介质，重力流干。
- 3) 加入样品，封闭柱管两端，4℃振荡孵育 2-4 h 或者 37℃孵育 30 min-2 h。
- 4) 孵育结束后，离心或过滤收集介质，上清保留作为流穿，用于电泳鉴定。
- 5) 用 5 倍介质体积的洗杂液清洗介质，离心或过滤去除上清，重复 3-5 次，中间建议更换新离心管。
- 6) 加入 3-5 倍柱体积的洗脱液进行洗脱，孵育 10-15 min，离心或过滤收集洗脱液，可重复 2-3 次。洗脱组分需要立即调成中性，一般建议使用洗脱组分体积 1/10 的中和液进行中和。

2.5.3 重力柱法纯化

- 1) 将装填好的重力柱用 5 倍柱体积平衡液进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲液体系下。
- 2) 将样品加到平衡好的重力柱中，收集流出液，可以反复上样增加结合效率。
- 3) 用 10 倍柱体积的洗杂液进行洗杂，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 4) 使用 5 倍柱体积的洗脱液洗脱，分管收集。洗脱组分需要立即调成中性，一般建议使用洗脱组分体积 1/10 的中和液进行中和。

介质洗脱结束后，用平衡液冲洗 5-10 柱体积，然后用纯水冲洗 5-10 个柱体积，再用 20%乙醇冲洗 2 个柱体积，置于 2-8℃保存。

2.6 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Epoxy-Activated Beads 4FF	SA040005	5 ml
	SA040025	25 ml
	SA040100	100 ml
	SA040500	500 ml
	SA04001L	1 L
Epoxy-Activated Beads 6B	SA071005	5 ml
	SA071025	25 ml
	SA071100	100 ml
	SA071500	500 ml
	SA07101L	1 L

