

环氧活化琼脂糖凝胶 6B

一、简介

环氧活化琼脂糖凝胶是采用平均粒径为90 μ m的6%交联琼脂糖凝胶，表面用大分子糖链接枝，使它有更高的比表面积和更好的生物兼容性，用它合成的亲和填料，避免蛋白之间位阻以及蛋白和填料的位阻干扰，使其同等配基下有更高载量，同时具有更高的分辨率。由于比表面积大，平衡和洗脱的时间也更短。即使是纯化病毒、抗体等生物大分子物质，载量也基本保持不变。

产品特点：

- 1、偶联条件温和，偶联效率高。
- 2、填料不需要处理，直接计算合适的量用于偶联，缩短时间。
- 3、刚性强，流速快。
- 4、可偶联含有氨基、巯基、羟基的配基，应用范围广。
- 5、偶联后制备的亲和填料寿命长，流速快，特异性高。

二、填料特性：

基质	高度交联琼脂糖凝胶
适用范围	带氨基、巯基、羟基的物质（多糖，蛋白，核酸，抗体以及其他物质）
功能基团	epoxy
配基密度	15-30 μ mol/ml
平均粒径	90 μ m
最大流速	200cm/h

三、操作步骤

用环氧活化琼脂糖凝胶6B偶联牛血清白蛋白（BSA）为例：

- 1、取BSA 100mg溶解于10ml的pH9.0 0.25M碳酸钠缓冲液中；
- 2、用量筒量取环氧活化琼脂糖凝胶6B 5-6mL；
- 3、将凝胶加入溶解后的BSA溶液中混合，在摇床上振荡，25 $^{\circ}$ C偶联6h；
- 4、然后加50mg甘氨酸，再反应6h，封闭剩余的基团。
- 5、偶联了BSA的填料可以装在柱子中，然后用1M NaCl溶液洗10个柱床体积，收集装柱子的液体以及清洗柱子的溶液测定BSA的总量，再用纯水冲10个柱床体积，最后将填料在20%乙醇溶液中保存。如果是大量的偶联，可以选择G3砂心漏斗或者滤器上按上面的方法清洗，用20倍填料体积，分3-5次清洗。
- 6、BSA的偶联量为6 mg/mL。计算方法：BSA的吸附载量 = $(G_0 - G_1) / V$ 。

G_0 ：BSA总使用量，单位：mg。

本产品仅用于科研

G_1 : 偶联反应后未偶联的BSA的量, 单位: mg。

V : 填料的体积, 单位: mL。

备注: 该偶联方法可用于偶联单抗及其它蛋白, 均能获得很好的偶联效果。

环氧活化的填料的应用注意事项:

1、活化的填料现取现用, 以免时间过长造成偶联活性降低。如果要偶联的蛋白不稳定, 可在摇床上4°C振摇偶联12-16小时, 以维持配基的活性。如果没有把握可以配相应浓度的配基溶液0.5-1ml, 分别选择不同pH及温度然后不加填料模拟偶联条件, 到时间观察溶液是否有沉淀, 如果有沉淀偶联效果就不好, 这时可以稍微降低pH或温度, 同时可以加5%左右的甘油或PEG保护蛋白, 避免沉淀, 总之对于任何配基最好能了解其溶解性及稳定性, 避免实验失败导致损失。

2、偶联配基后尽快清洗填料, 避免在高pH条件中, 配基失活。

3、更稳定的配基可以直接溶解于NaOH溶液或者碳酸钠溶液中进行偶联, 温度可适当提高, 偶联时间则相应缩短至1-4小时。

4、偶联蛋白的最适pH为可以在8.0-10左右, 在室温或4°C均可, 温度与pH的提高均能增加配基的吸附载量, 根据蛋白的稳定选择合适的pH和温度, 偶联蛋白溶液的浓度为5-20mg/ml。填料体积和配基溶液的体积为1:1.5或者为1:2。

5、偶联的缓冲液包括碳酸盐、硼酸盐和磷酸盐缓冲液, 但绝对不能使用Tris、甘氨酸等含有氨基的物质。

6、只能够用于体外实验, 不能够用于临床、治疗和动物体内实验等, 由此产生的后果, 概不承担责任。