



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

溴化氰活化的琼脂糖

一、产品介绍

CNBrActivatedChromrose®4B/4FF是CNBr活化的琼脂糖介质，其基质是高度交联的4%的琼脂糖，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能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，同时有更好的分辨率。

CNBrActivatedChromrose®4B/4FF 预活化介质偶联载量高达12mgBSA/mL介质,在37°C加速老化试验中，10天无明显降低，具有良好的物理和化学稳定性；适合客户买不到商业化产品时，自行偶联抗体或蛋白，根据自身需求简单制作亲和填料。

二、技术指标

产品名称	CNBrActivated Chromrose®4B	CNBr Activated Chromrose®4FF
基质	4%琼脂糖	4%高度交联琼脂糖
粒径	45~165μm	
每毫升载量	12mg BSA	
最高流速	75cm/h	700cm/h
最大耐压	0.1MPa	0.3MPa
化学稳定性	所有常用水溶性缓冲液中稳定：8M尿素， 6M盐酸胍， 70%乙醇	
pH稳定性	3~11(长期)2~11(短期)	
保存条件	100%丙酮	

线性流速=体积流速 x 60 / 柱横截面积

请注意：pH稳定性，长期是指凝胶在长时间内稳定而对其后续色谱性能没有不利影响的pH间隔；短期是指再生、清洁和消毒程序的pH间隔。

三、偶联方法

1、CNBr 活化的琼脂糖凝胶 4B 在添加剂存在的情况下以冻干形式保存。在偶联所需的配体之前，必须在低 pH 值（pH 3）下洗去这些添加剂。使用低 pH 值



(pH 3) 可保持反应基团的活性, 否则这些反应基团会在高 pH 值下水解。称取所需量的粉末 (1 g 冻干粉末得到约 3.5 mL 最终体积) 并将其悬浮在 1 mM HCl 中。凝胶立即溶胀, 现在应在烧结玻璃过滤器 (孔隙率 G3) 上用 1 mM HCl 洗涤 15 分钟。每克冻干粉使用约 200 mL 1 mM HCl, 分几次加入。

2、溶液配制

偶联液: 0.2M NaHCO₃ 0.5M NaCl, pH8.3;

封闭液: 0.1M Tris; pH8.5;

清洗液1: 0.1M 乙酸-乙酸钠, 0.5M NaCl, pH3.0

清洗液2: 0.1M Tris-HCL, 0.5M NaCl pH8.0。

必须尽量缩短清洗和偶联之间的时间间隔, 因此建议在偶联前准备所有需要的溶液。缓冲液均需先过滤再使用。

3、蛋白预处理

每毫升的介质可偶联10~12mg的蛋白。干粉状蛋白可用偶联液溶解蛋白, 液体状蛋白需将其缓冲液置换为偶联液。

4、清洗

取适量丙酮保存的凝胶放在玻璃过波漏斗过波掉丙酮回收, 用纯水清洗4倍胶体积, 再用4倍胶体积的偶联液洗涤。

5、偶联

偶联比(凝胶:偶联样品液)=1:2(V:V)洗涤完成后, 快速将清洗后抽干的凝胶加到蛋白溶液中, 搅匀, pH调到8.3, 于室温振荡反应2h, 转速70rpm。

6、封闭

反应完成后收集偶联样品, 可测偶联样品液中蛋白浓度(紫外吸收法), 计算偶联率。收集的偶联样品用超纯水清洗两遍, 封闭液清洗一遍, 再加入2倍胶体积的封闭液, 室温振荡到闭1h, 以消除转余活性基团。

7、清洗

取封闭后的凝胶, 用超纯水清洗3遍, 清洗液1、清洗液2重复清洗3遍, 超纯水清洗3遍, 蛋白偶联完成, 该亲和介质可使用。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

保存: 已偶联配基的层析介质: 20%乙醇, 冷藏保存;

未偶联配基的预活化层析介质: 100%丙酮, 冷藏保存。

四、再生

再生条件取决于哪个配体被偶联。参考文献和教科书可以提供很好的指导。

一种一般的再生方法如下: 可以通过用2到3个柱体积交替的高pH (0.1M Tris-HCl, 0.5M氯化钠, pH8.5) 和低pH (0.1M醋酸钠, 0.5M氯化钠, pH4.5) 缓冲液洗涤介质来再生亲和介质。这个循环应重复3次, 然后在结合缓冲液中重新平衡。



源叶