

SulfoLink Coupling Agarose Resin 巯基蛋白琼脂糖偶联树脂

产品简介

SulfoLink Coupling Agarose Resin 是一类预活化的琼脂糖树脂，其纯化原理在于可以通过与巯基的反应实现抗原的固定化，进而利用抗原抗体的特异性反应对免疫血清中的抗体进行高效纯化，是多克隆抗体生产中不可缺少的纯化介质。

产品信息

货号	20511ES08/ 20511ES25/20511ES60
规格	5 mL / 25 mL / 100 mL

产品性质

基质 (Matrix)	4%琼脂糖微球
配体 (Ligand)	碘乙酸衍生物
粒径 (Bead size)	45-165 μm
载量 (Capacity)	4.0-6.0 mg HC-7 多肽/mL 基质
最大压力 (Pressure _{Max})	0.1 MPa, 1 bar
pH 稳定范围 (pH range)	5-10
储存缓冲液 (Buffer)	1 M NaCl 溶液

储存条件

2~8°C保存，有效期2年。

使用说明

1. 缓冲液准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

偶联液: 50 mM Tris, 5 mM EDTA-Na, pH 8.5

封闭液: 50 mM Tris, 5 mM EDTA-Na, 50 mM L-半胱氨酸, pH 8.5

保护液: 含 20%乙醇的 1×PBS

平衡/洗杂液: 150 mM 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. 抗原准备

纯化样品在上样前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

使用偶联液溶解抗原，制备成终浓度为 1-3 mg/mL 的抗原溶液。建议该溶液现用现配，储存时间过长会影响偶联效果。

注：① 抗原样品使用前务必确保其巯基处于还原状态（可以使用 DTNB(Ellman's Reagent) (Cat#60306ES) 检测自由巯基的含量）。如果巯基已经氧化，必须对抗原样品进行还原，一般推荐使用还原剂 TCEP hydrochloride (Cat#20330ES)，TCEP 溶液很稳定，可以选择性的、高效的打开抗原中的二硫键，并且不影响抗原与树脂的偶联反应，每毫克抗原中 TCEP 的添加量不超过 12 mg，具体使用量需要自行优化。

② 如果使用 DTT 等含有巯基的还原剂，处理完样品必须要将还原剂去除，否则会影响抗原与树脂的偶联效率。

3. 抗原偶联

1) 取适量 SulfoLink Coupling Agarose Resin，加入到合适的重力柱中，靠重力流干保护液，用 3 倍柱体积的偶联液平衡树脂，待偶联液流干，再加入 3 倍柱体积的偶联液，重复操作 2 遍。共使用 9 倍柱体积的偶联液。

2) 关闭柱子的下端出口，加入等体积的含巯基的抗原，混匀，取出至合适的离心管中，置于 28°C 震荡孵育 30 min。

注：确保树脂充分悬浮起来，否则将大大影响偶联效率。

3) 将上述反应体系取出，转移至重力柱中，流干其中溶液，并收集流出液，再用 3 倍柱体积的偶联液清洗树脂，合并两次流出液。

注：如有需要，可以使用 Ellman's Reagent 检测其中巯基含量，得出抗原残留量，从而计算偶联效率。

4) 关闭柱子的下端出口，加入等体积的封闭液，混匀，转移至合适的离心管中，于 28°C 震荡孵育 30 min。

5) 将上述反应体系取出，转移至重力柱中，流干其中的封闭液。

注：如果立即使用，可以参考【抗体纯化】操作。如果以后使用，可以用 3 倍柱体积的结合液清洗树脂，然后保存在等体积的保护液中，于 4°C 冰箱保存。

4. 抗体纯化

1) 将偶联了抗原的树脂装入合适的层析柱，用 5 倍柱体积的结合液进行平衡，使树脂处于与抗体更易结合环境中，一方面保护目标抗体，另一方面提高抗体结合效率。

2) 将含有抗体的样品加到平衡好树脂中，为了保证抗体与树脂充分接触，提高目标抗体的回收率，可以控制上样流速在 0.5-1 mL/min，并收集流出液。

3) 用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，提高目的抗体的纯度，收集洗杂液。

4) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液，收集洗脱组分，即目的抗体。

注：为了保持抗体活性，需要立即将洗脱组分透析至 pH 7.0-8.0 的缓冲液中，或者先加入 1/10 倍洗脱组分体积的中和液，将洗脱组分进行中和，再透析。

5) 依次使用 3 倍柱体积的结合液和 5 倍柱体积的去离子水平衡树脂，最后再用 5 倍柱体积的保护液平衡，然后保存在等体积的保护液中，置于 4°C 保存，防止填料被细菌污染。

5. SDS-PAGE 检测

将纯化抗体样品得到的流出组分、洗杂组分和洗脱组分以及原始含抗体样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

注意事项

1. SulfoLink Coupling Agarose Resin 使用前一定要充分颠倒若干次，使琼脂糖珠混合均匀。
2. 所有操作过程中，样本需要在 4°C 或冰上操作。
3. 本产品仅作科研用途。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

附表 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子流速低	筛板被堵塞	清洗或更换筛板
	样品或树脂中有气泡	轻轻搅拌树脂或敲击层析柱去除气泡
偶联液中蛋白或多肽沉淀	蛋白或多肽不溶	偶联液中加入 <30% 的 DMSO 或 DMF 或 6 M 盐酸胍促进样品溶解
偶联效率低	样品无巯基，被氧化	加入 DTT 或 TECP 后立即交联
洗脱组分纯度低	树脂没有彻底清洗	增加结合/洗杂液体积