版本 2026/04/14（01）

1 μm 酰肼磁珠

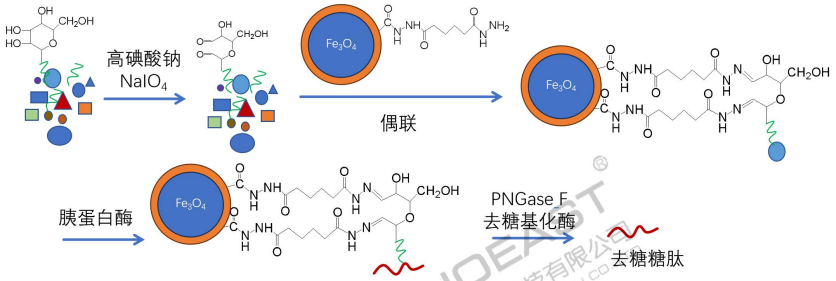
【产品名称】MagBeads® 1 μm 酰肼磁珠
【英文名称】MagBeads® Hydrazide-Modified Magnetic Beads
【订货信息】

货号	产品名称	规格	浓度
MB1109	MagBeads® 1 μm 酰肼磁珠	1 mL	10 mg/mL
		5 mL	10 mg/mL
		10 mL	10 mg/mL

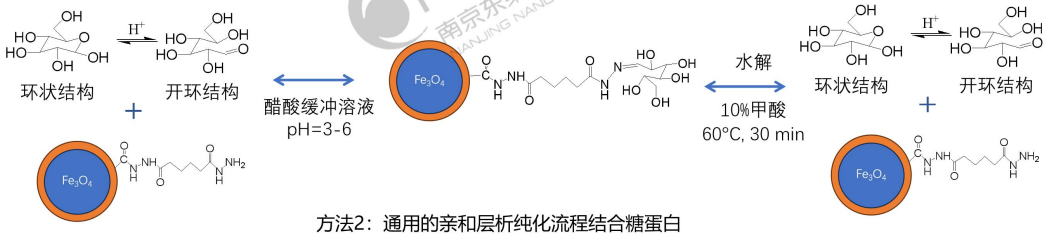
【成　分】 1 μm 酰肼磁珠
【简　介】

糖基化是最复杂的蛋白质翻译后修饰之一，哺乳动物体内有 50%以上的蛋白质预测为糖基化修饰蛋白。目前富集纯化糖蛋白质的方法主要包括凝集素亲和法、硼酸亲和法、酰肼化学法及亲水作用色谱法。其中酰肼化学法对糖蛋白质的富集能力强且选择性高。东纳生物科技有限公司提供粒径为 1 μm 具有酰肼表面基团的均匀超顺磁珠。该产品广泛用于通过形成稳定的腙键，共价偶联含有醛基的配体（如抗体、凝集素、糖蛋白、碳水化合物等）。这种偶联方法是一种高效的蛋白质固定方式，能够保留关键的活性位点不受影响。

酰肼磁珠偶联糖蛋白或聚糖可以通过高碘酸钠氧化多糖部分糖基中的顺式乙二醇基团实现。生成的醛与磁珠上的酰肼基自发反应，形成稳定的共价键。另外，也可以通过糖蛋白上释放的糖链的还原端与磁珠表面的酰肼发生反应，将糖链共价连接在磁珠上，通过酸的可逆洗脱将糖链从酰肼磁珠上释放出来，用于后续的质谱法分析。



方法1：酰肼磁珠结合糖蛋白（高碘酸钠氧化法）



方法2：通用的亲和层析纯化流程结合糖蛋白

【产品信息】

基质	磁性微球
粒径	约 1 μm
磁珠浓度	10 mg/mL
官能团载量	~170 μmol/g 磁珠
保存条件	密封，2-8℃/24 个月，禁止冷冻，使用前请充分混匀
包装	塑料瓶

【使用说明】

注意：以下所述的方案是将糖蛋白与 MagBeads® 1 μm 酰肼磁珠进行结合的示例，需要根据实际情况进行磁珠用量相应的调整。应避免使用 Tris 或其他含有伯胺或糖类的缓冲液，因为这些物质会与预期的偶联反应发生竞争。

方法 1：酰肼磁珠对糖蛋白进行分离（高碘酸钠氧化法）

偶联缓冲液：0.1 M 乙酸钠缓冲液（pH 5.6）

氧化剂：高碘酸钠（$NaIO_4$）

洗涤缓冲液：1 M 氯化钠

（1）糖蛋白的氧化

注意：该反应对光敏感，应在黑暗中进行。

1）在 1 mL 偶联缓冲液中溶解或稀释 0.5~10 mg 糖蛋白。（注意：如果蛋白质已经悬浮在其他缓冲液中，请通过透析脱盐柱进行缓冲液交换）。

2）将蛋白质溶液（1 mL）添加到含有 2 mg 高碘酸钠（终浓度应保持在 10 mM 左右）的琥珀色小瓶中。轻轻旋转以溶解氧化剂。

3）将样品在室温避光条件下静置 30 分钟，轻轻旋转以保持均匀。

4）终止反应，并通过 Sephadex G25 色谱柱进行脱盐和缓冲液交换，除去未反应的高碘酸钠。用偶联缓冲液对 5 毫升 Sephadex G-25 色谱柱进行预平衡。将氧化后的样品上样至色谱柱，使其进入凝胶床。应用 0.5 mL 的偶联缓冲液冲洗，并使其也进入凝胶床。最后加入 2 mL 偶联缓冲液并收集洗脱液。

（2）氧化的糖蛋白与酰肼磁珠偶联

1）将磁珠分散均匀，取 1.5 mL 磁珠（10 mg/mL）于离心管中。

2）磁分离，去除上清，并用 1.5 mL 偶联缓冲液重悬磁珠。

3）重复步骤 2~3 次。

4）从分离器中取出离心管，并用 750 μL 偶联缓冲液重悬磁珠。

5）将磁珠与 250 μL 氧化蛋白溶液混合，并在室温下孵育至少 6 小时。

注意：偶联效率取决于目标糖蛋白的结构和大小。用户应根据实际情况优化蛋白浓度。对于 10 mg 磁珠，我们建议从 100~250 μg 开始。

6）用 1 mL 洗涤缓冲液洗涤磁珠 3 次。

8）将结合糖蛋白的磁珠重悬于 PBS 缓冲液（含 0.1％Proclin 300（v/v））中至所需浓度，并保存在 4°C 直至使用。不要冻结。

(3) 分离糖肽

1）将结合糖蛋白的磁珠分散于 50 mmol/L NH_4HCO_3 缓冲液中，加入 20 μg 胰蛋白酶，在 37 °C 下恒温振荡消化 4 小时，再加入 20 μg 胰蛋白酶，继续消化过夜。

2）分别用 2 mol/L NaCl 溶液、100%甲醇和 50 mmol/L NH_4HCO_3 缓冲液充分洗涤磁珠来去除胰蛋白酶释放的肽段。将磁珠重新悬浮于 50 mmol/L NH_4HCO_3 缓冲液中，通过在 37 °C 下与 2 μL PNGase F 去糖基化酶共同孵育 4 小时来释放 N-糖肽。将释放的去糖基化肽段加载到预处理过的柱子中，并用 0.1%三氟乙酸中的 80%乙腈洗脱。洗脱液通过质谱进行分析。

方法 2：通用的亲和层析纯化流程结合糖蛋白

该方法是一种通用的亲和纯化流程。但由于没有两种蛋白质是完全相同的，所以不可能设计出适用于所有蛋白质纯化的通用方案。为了获得最佳效果，每位用户都必须确定针对特定目标蛋白质进行纯化的最佳操作条件。

偶联缓冲液：0.1 M 醋酸钠缓冲液，pH 5.6

储存缓冲液：15 mM PBS，pH 7.4，含 0.02% Proclin 300

（1）聚糖/多肽的制备

将 5 μL 的血清溶解在 200 μL 的 0.4 mmol NH_4HCO_3 缓冲液（pH 8.0 - 8.3）中，然后在 100 °C 下加热 5 分钟进行变性。将样品冷却至室温后，向血清溶液中加入 500 μL 1 mg/μL 的胰蛋白酶，并在 37 °C 下孵育 16 小时。消化后的样品在 100 °C 下加热 5 分钟以使胰蛋白酶失活，然后加入 10 μL 的去糖基化酶 PNGase F（500 单位/μL）。然后将样品在 37 °C 下孵育 16 小时，并在 HPLC 水中重悬。在分析肽之前，从消化后的溶液中提取出糖类物质后，该样本通过层析柱进行纯化，以去除盐分和其他小分子物质。

（2）酰肼磁珠结合聚糖：

将酰肼磁珠用甲醇-醋酸缓冲液（85：15，v/v）清洗 2 次，去上清。向 100 μL 醋酸盐缓冲液和甲醇的磁珠中加入 5 μL 聚糖和肽混合物。加入 10 mM 苯胺作为催化剂，使聚糖还原端与肼基磁珠发生结合反应。将样品和磁珠混合，微波炉 50%条件下反应 20 min，为避免样品-磁珠过热，每 5 分钟微波照射，1-2 分钟间隔。

（3）聚糖的释放：

用 1 mL 50 mmol/L NH_4HCO_3（pH 值为 8.0-8.3）冲洗结合了聚糖的酰肼磁珠。冲洗五次以完全清除非结合的样品（包括肽类）。随后，向清洗后的磁珠中加入 200 μL 10%甲酸，将其置于 40 °C 的烘箱中孵育 30 分钟，冷却至室温后，进行磁分离收集上清，并用 200 μL 5%乙酸溶液再清洗磁珠两次。上清液再通过过柱子进行浓缩，以进行进一步的分析。

此外，针对不同需求的用户，我们提供东纳公司专家团队技术支持，配合指导客户使用，帮助客户取得最好的实验效果。

【注意事项】

1. 磁珠取用前应充分混匀，防止取用改变磁珠浓度，避免长时间超声对磁珠表面破坏；
2. 磁珠使用和保存过程中应避免冻融。

【生产单位】

公司名称 南京东纳生物科技有限公司
地　　址 南京市江宁区龙眠大道 568 号南京生命科技小镇 5 号楼北楼 6 楼
邮政编码 211000
电话号码 025 8347 5811
电子邮箱 marketing@nanoeast.net
公司网站 www.nanoeast.net