

载体蛋白 BSA、OVA

产品编号：7003 BSA、7004 OVA

牛血清白蛋白(BSA; 67kDa)和卵白蛋白 (OVA; 45kDa)可以与半抗原偶联刺激机体产生针对半抗原的抗体应答。OVA 和 BSA 与半抗原偶联也可以在 ELISA 检测抗半抗原抗体时作为无关载体。

规格

10mg/支, 5 支/盒

BSA/OVA 载体蛋白 (MES 缓冲液), 缓冲液含 0.1M MES (2-(N-吗啉代)乙磺酸), 0.15M NaCl, pH 4.7 或 BSA/OVA 载体蛋白 (PBS 缓冲液), 缓冲液含 0.1M PB, 0.15M NaCl, pH 7.2。

运输、储存和有效期

冷藏运输, -20°C 储存, 在有效期内使用。正常储存条件下自生产之日起有效期 2 年。

操作方法:

马来酰亚胺活化 BSA/OVA 和抗原偶联方法

A. 实验需要但不提供的材料

- Sulfo-SMCC (CAS No. 92921-24-9) (Thermo 22322, Sigma M6035).
- 偶联缓冲液 (83mM PB, 0.1M EDTA, 0.9M NaCl, 0.02% NaN₃, pH 7.2)
- 除盐柱 Sephadex G-25
- 含-SH 的半抗原 10mg
- 纯化缓冲液 0.083M PB, 0.9M NaCl

B. 马来酰亚胺活化和偶联方法

1. 取 1 支 BSA/OVA(溶于 1ml PBS)溶液.
2. 用蒸馏水现配 10mM Sulfo-SMCC 水溶液(5mg/mL).
3. 取 1.5mLSulfo-SMCC 至载体蛋白中, 室温孵育 60 或 37° C 孵育 30 minutes 并间歇性缓慢搅拌.
4. 用除盐柱去除偶联剂.
5. 将 10mg 含-SH 的多肽溶于 2.5mL 偶联缓冲液中
6. 迅速混合多肽和活化 BSA/OVA 室温反应 2 小时.
7. 用除盐柱或透析去除 EDTA 和叠氮钠.

用 EDC 偶联半抗原-载体的步骤

A. 需要额外材料

- 半抗原或蛋白质, 2mg
- EDC, 10mg (Sigma 03450 或 Thermo 77149)
- EDC 偶联缓冲液含 0.1M MES, 0.9M NaCl, 0.02% NaN₃; pH 4.7
- 除盐柱 Sephadex G-25



- 纯化缓冲液 0.083M PB, 0.9M NaCl

B. EDC 偶联步骤

1. 取 1 支 BSA/OVA(MES 缓冲液或 PBS 中)
2. 溶解 4mg 多肽/半抗原至 BSA/OVA 溶液中
3. 在多肽/载体溶液中加入 EDC 10mg,缓慢搅拌溶解, 室温反应 2 小时
4. 用除盐柱除盐或透析以去除偶联剂和叠氮钠.

注意事项

1. 以上操作步骤不一定适合所有的半抗原, 半抗原的大小和结果都会影响偶联的效率。一般来说, 半抗原的摩尔数多于载体的摩尔数会保证偶联效率。
2. 对于水溶性不好的半抗原, 可用 DMSO 溶解, 但 DMSO 在最终的偶联缓冲液中不能超过 30%, DMSO 用除盐柱除去, 与透析不兼容。
3. 偶联过程中有沉淀产生, 离心, 分别收集上清和沉淀, 纯化上清, 纯化出的结合物与沉淀混合。
4. 如果用抗原亲和层析纯化抗体, 应该用相同的基团偶联到凝胶上。

参考文献

Harlow, E. and Lane, D. (1988). *Antibodies: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory. Chapter 5 discusses the use of carrier proteins.

Hermanson, G.T. (2008). *Bioconjugate Techniques*. 2nd edition, Academic Press, New York. Chapter 19 discusses carrier protein uses and immunogen preparation.