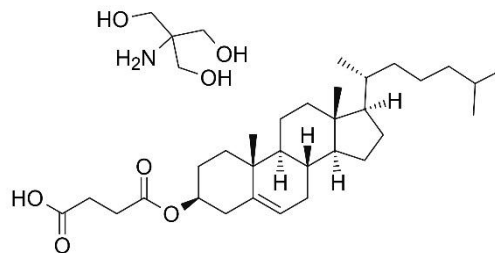


产品使用说明书

CHS (胆甾醇半琥珀酸酯三羟甲基氨基甲烷盐)

货号：CHS01, CHS02, CHS03



产品参数

全名	2-amino-2-(hydroxymethyl) propane-1,3-diol;4-[[[(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R)-6-methylheptan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta [a] phenanthren-3-yl] oxy]-4-oxobutanoic acid; 2-氨基- 2-(羟甲基)丙烷- 1,3 -二醇 4-[[[(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13 -二甲基- 17-[(2R)-6-甲基庚- 2 -基]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17 -十二氢- 1H -环戊并[a]菲-3 -基]氧基]-4 -氧代丁酸
物理性状	白色固体
CAS 号	102601-49-0
分子式	C ₃₅ H ₆₁ NO ₇
分子量	607.86
纯度	≥ 99.0%
溶解性	6 % CHAPS Aqueous:2.5 % (ultrasound-assisted dissolution); 10 % DDM Aqueous:0.8 % (ultrasound-assisted dissolution)

产品描述

CHS (胆甾醇半琥珀酸酯三羟甲基氨基甲烷盐) 为甾类阴离子型去垢剂助剂，分子以刚性胆固醇四环甾核作为疏水骨架，通过琥珀酸连接带负电的极性头基，Tris 作为反离子实现水溶性，模拟天然胆固醇的分子构象。

CHS 单独在水中不形成可有效增溶膜蛋白的胶束（倾向形成囊泡样聚集体），不适合单独使用，通常与 LMNG（货号：LMN01、LMN02、LMN03）等主去垢剂复配使用，嵌入去垢剂胶束内部重构类原生膜微环境。可显著提升 G 蛋白偶联受体 (G Protein-Coupled Receptor, GPCR) 等真核膜蛋白的热稳定性，抑制蛋白构象解折叠与聚集，保留蛋白生理活性。

产品用途

- 膜蛋白提取纯化
- 蛋白结晶
- 冷冻电镜样品制备等结构生物学研究，
- 膜环境模拟添加剂（GPCR 研究）

产品运输与储存

- 低温保存，防潮
- 粉末形态：-20°C 可保存 3 年
- 溶于溶剂后：-80°C 可保存 1 年
- 常温运输

使用方法

CHS 母液配制(1% w/v)

由于 CHS 水溶性弱, 需依托主去垢剂稳定存在, 建议配制成 1% (10mg/mL) 低浓度稳定母液, 搭配 LMNG(货号: LMN01/LMN02/LMN03) 共同使用。

- 1) 称量: 在干燥环境中快速称取 CHS 固体, 避免吸潮影响纯度。
- 2) 溶解: 优先使用含 5%~10% LMNG 母液的缓冲液辅助溶解, 加入去离子水或纯化缓冲液, 轻轻超声或冷室旋转摇晃, 直至液体完全澄清无沉淀。
- 3) 过滤分装: 使用 0.22 μ m 滤膜过滤除菌, 按单次用量分装, -20 $^{\circ}$ C 避光密封保存(可稳定保存 6 个月以上, 避免反复冻融)

实验方案

本部分以人源神经降压素受体 1 (hNTSR1) 与腺苷 A2A 受体 (A2AR) 为例, 提供 LMNG-CHS 体系应用于杆状病毒表达 GPCR 的溶膜提取及钴离子亲和纯化参考方法。

1. 实验材料

去垢剂: LMNG(货号: LMN01/LMN02/LMN03), CHS(货号: CHS01/CHS02/CHS03)

辅助试剂: Tris-HCl、HEPES、NaCl、CaCl₂、MgCl₂、甘油、咪唑、蛋白酶抑制剂;

关键耗材与设备: 0.22 μ m 滤膜、固定化钴离子 IMAC 亲和层析树脂、体积排阻 SEC-250 分析色谱柱、4-12% SDS-PAGE 胶、模块化高效 HPLC 系统、高速冷冻离心机。(如您需要详细信息, 可与我们联系)

2. 去垢剂溶液配制

- 1) 称取 3 g LMNG 粉末, 加入约 40 mL 200 mM Tris-HCl (pH 8.0), 充分溶解后, 定容至 50 mL, 配制成 6% (w/v) 母液。
- 2) 每管加入 1.2% CHS, 超声处理至溶液完全透明无色, 加溶剂定容至 50 mL。溶液经 0.22 μ m 滤膜过滤除菌后, 分装置于 -80 $^{\circ}$ C 条件下保存备用。

3. GPCR 家族膜蛋白表达与膜制备

- 1) 利用 Bac-to-Bac 杆状病毒表达系统构建人源 GPCR 家族膜蛋白 (hNTSR1、A2AR 等) 重组杆状病毒, 对 50 mL ExpiSf9 昆虫细胞进行病毒感染, 实现目的蛋白表达。
- 2) 收集细胞沉淀, 于室温解冻后, 重悬于低盐缓冲液 (20 mM HEPES pH 7.4、100 mM NaCl、5 mM CaCl₂、5 mM MgCl₂、10% 甘油, 并添加蛋白酶抑制剂)。
- 3) 4 $^{\circ}$ C、100,000 $\times$ g (如 Type 70 Ti 转子, 35,000 rpm) 高速离心 30 min, 收集细胞膜沉淀备用。

4. 膜蛋白提取与纯化

- 1) 膜重悬与匀浆破碎: 将细胞膜沉淀重悬于缓冲液 (20 mM HEPES pH 7.4、100 mM NaCl、5 mM MgCl₂、5 mM CaCl₂, 补加蛋白酶抑制剂), 使用 Dounce 充分破碎混匀, 均分为 2 份, 每份体积 1 mL。
- 2) 膜蛋白溶解: 加入 LMNG&CHS 工作液处理样品, 4 $^{\circ}$ C 旋转孵育 3 h, 完成膜蛋白溶解。
- 3) 澄清与亲和结合: 100,000 $\times$ g (如 Type 70 Ti 转子, 35,000 rpm) 离心 30 min, 收集上清; 取 60 μ L 固定化钴离子 IMAC 亲和层析树脂 (1 CV=30 μ L) 及含 20 mM 咪唑的溶液与上清在 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育结合, 实现目的蛋白与树脂结合。
- 4) 洗杂与洗脱:
洗杂: 使用 20 CV 含 20 mM HEPES (pH 7.4)、150 mM NaCl、30/50 mM 咪唑及 0.05% LMNG & 0.01% CHS 的缓冲液梯度洗涤, 去除非特异性结合杂蛋白。
洗脱: 使用 5 CV 含 20 mM HEPES (pH 7.4)、150 mM NaCl、250 mM 咪唑及 0.01% LMNG & 0.002% CHS 的缓冲液洗脱, 获得 GPCR 目的蛋白。

5. 样品分析验证

- 1) HPLC-SEC 分析: 取 60 μ L 蛋白样品上样至 Sepax Nanofilm SEC-250 色谱柱, 采集色谱图谱, 评价蛋白样品单分散性、聚集情况。
- 2) SDS-PAGE 分析: 取 30 μ L 洗脱蛋白样品, 与 10 μ L 4 $\times$ 蛋白上样缓冲液充分混匀, 取 30 μ L 混合样品上样, 使用 4-12% 梯度 SDS-

PAGE 胶进行电泳，分析目的蛋白纯度。

注意事项

1. 为了确保操作人员的安全与健康，实验全过程请务必穿戴实验服并佩戴一次性手套。
2. 本品所附带的部分产品技术信息仅供客户参考、学术交流与科学研究之用；我司不对所提供信息的绝对权威性与完整性作担保。
3. 本品仅供科学研究使用，严禁用于临床诊断、治疗、食品及药品等任何人体相关用途，禁止存放于普通住宅。
4. CHS 固体易吸潮，称量需要快速，要保持环境干燥通风。称量结束立即密封瓶盖，减少水汽吸入造成结块变质。
5. CHS 无法在水溶液中独立形成胶束，因此严禁单独添加至缓冲液，使用时必须搭配 LMNG 等糖苷类主去垢剂，以防蛋白出现析出、沉淀现象。
6. 推荐 CHS 与主去垢剂比例为 主去垢剂:CHS=10:1~5:1 (w/w)。过量的 CHS 无法被胶束容纳，会析出造成膜蛋白共沉淀损失。在层析洗涤、洗脱步骤中，要同步按比例降低 CHS 和主去垢剂浓度。
7. 如果有明显的颗粒，建议在干燥条件下碾碎后再溶解，可以减少溶解时间。

技术问答

可能出现的问题及解决方案：

技术问题	解决方案
产品有哪些保存和储存以及使用注意事项？	产品比较容易吸潮，低温（建议-20度）干燥储存； 从低温环境取用时，一定要回复室温后在称取使用，称取后充氮气保存于原低温环境，防止反复取用产品结块影响使用。
去垢剂(如 CHS)在工作液中超声一定时间后仍未完全溶解，怎么办？	使用 6 号杆（小号超声探头）、功率设为 40%，在室温下超声 30 分钟以上（不要放冰上），过程中观察溶液从浑浊变澄清即为溶解完成。 CHS 等类固醇类去垢剂溶解度较低，冰浴会进一步降低溶解度，换小探头+40%功率+室温长时超声是经过验证的有效方案。