

链霉亲和素磁珠 (Streptavidin Beads)

简介:

使用强有力的偶联技术将磁珠粒子表面全部用于结合天然的链霉亲和素，提高生物素标记分子的捕捉能力和降低背景信号。结合的链霉亲和素磁珠表面具有更高的功能稳定和更优良的均匀性。磁珠表面拥有一层具有很强键合能力的链霉亲和素，同时具有优异的可重复性。具有高效的液相反应动力学特性。磁珠粒径 1000nm。由聚苯乙烯包覆。本公司提供不同包装规格的产品 1mL、5mL、20mL。固含量为 10mg/ml。

储存: 悬浮于 10mM pH7.4 的 PBS 缓冲液中 其中 (0.02% Proclin300, 0.02% Tween 20), 2-10°C 保存, **保质期为 18 个月**。储存时磁珠容器要竖直存放, 保证沉降下来的磁珠被溶液保护, 防止粘附在管壁上面的磁珠失水, 磁珠生物活性下降。避免冰冻, 冰冻后可能造成磁珠活性下降。1mg 链霉亲和素磁珠可结合 1000 pmoles 游离生物素 400 pmoles 生物素化寡核苷酸 15ug 生物素化抗体。双链 DNA 结合情况与片段长度有关。

原理:

链霉亲和素偶联的磁珠作为固相基质可简便快捷、有效地与许多生物素化复合物结合, 如小分子肽类、蛋白、抗体、糖类、凝集素、寡核苷酸 DNA/RNA 等, 因而其可用于分子与免疫诊断、细胞分选、cDNA 表达文库的建立和药物筛选等。

注意:

链霉亲和素磁珠结合能力与特定靶分子的大小有关。确保样品中无过量的游离生物素存在, 因为游离生物素比大分子量的靶分子更容易与链霉亲和素结合。生物素化引物扩增的 PCR 产物溶液中, 尽量去除游离生物素化引物, 然后与磁珠结合, 因为生物素标记的引物比带生物素的 DNA 片段更容易与磁珠结合。去除生物素化引物可以通过超滤法、微透析法, 一般的 DNA 纯化回收也是可以的去除生物素标记的引物。

建议每次应用中, 磁珠的用量应通过滴定法进行优化, 配体分子的大小和生物素化程度均可能影响二者结合能力。磁珠与生物素化配体的比例会直接影响整个实验结果, 磁珠数量恒定下, 生物素化配体在较低溶度情况下, 随着生物素化配体溶度的增加, 磁珠与配体结合后, 其具有的配体结合靶物质能力提高, 但是超过饱和和吸附后, 生物素化配体增加, 不能提高磁珠配体结合体的与靶物质结合能力。

生物素化配体的制备, 推荐使用如 Pierce 或 Sigma 生产的生物素化试剂。不同的功能集团: 胺类、巯基羧基碳水化合物、酪氨酸和组氨酸侧链、胍、胞嘧啶碱基都可以用生物素标记。生物素化过程中可能造成靶分子的活性丧失, 需要根据具体应用避免。在 DNA 合成过程中一般是在寡核苷酸引物 5' 端标记生物素, 用 Pierce 或 Sigma 的 biotin-X-NHS Ester 可以将蛋白质生物素化。当磁珠与配体结合后, 用配体去捕获目标物, 需要保证靶物质游离在溶液中, 而且与配体结合的位点裸露在外面。

操作步骤 (供参考):

磁珠准备

- 1、使用前涡旋均匀 (也可采用超声分散, 将试管小心放入普通超声波清洗器中, 超声 3min 左右), 用移液器取需要量的磁珠到一离心管中。
- 2、离心管置于磁力架中约 1 分钟左右可完成分离。用移液器移除液体。
- 3、加入特定实验的洗涤液体, 试管盖好, 漩涡震荡混匀。然后磁分离移除液体。

4、重复 1~2 次洗涤步骤，并将磁珠悬浮于适量溶液。

做抗体或蛋白相关实验前可采用 PBS 或生理盐水缓冲溶液洗涤 SA 磁珠 2~3 遍；做核酸相关实验前应使用 1× B&W Buffer 洗涤至少 3 遍后使用。2× B&W Buffer: 10mM Tris-HCl(pH7.5) 1mM EDTA 2M NaCl。本产品未添加核糖核酸酶，做 RNA 相关实验前应做去除 RNase 处理，RNA 实验：使用溶液 A (A 液: DEPC-treated 0.1M NaOH DEPC-treated 0.05M NaCl) 洗涤 SA 磁珠两次，每次 2min，再用溶液 B (DEPC-treater 0.1M NaCl) 洗涤一次，最后将 SA 磁珠悬浮于 B 液中。

与生物素化配体结合：

链霉亲和素磁珠与 Biotin-Antibody 或 Biotin- Peptides 的结合

- 1、计算磁珠和生物素化抗体所需用量。每 mg 链霉亲和素磁珠最大量结合 15ug 抗体或 300pmol 生物素化多肽，通常不需要加入饱和抗体/多肽。
- 2、悬浮磁珠后和生物素化抗体在室温下孵育 30 分钟，旋转混匀。
- 3、孵育后，离心管置于磁力架 2 分钟，移除上清。
- 4、用 PBS/BSA 洗涤磁珠 4-5 次。
- 5、悬浮磁珠稀释至所需浓度，用于下游实验。

链霉亲和素磁珠与核酸的结合

- 1、取适量洗涤好的磁珠。
- 2、用 2xB&W 缓冲液悬浮磁珠使终浓度为 1ug/ul 或实验的适宜浓度。
- 3、加等体积的生物素化 DNA/RNA 溶液。
- 4、室温下，旋转或轻敲离心管混合。30bp 左右片段孵育 10 分钟左右，1kb 左右片段孵育 15 分钟。
- 5、孵育后，将离心管放在磁力架上 1 到 2 分钟，并移除液体。
- 6、用 1xB&W 缓冲液洗涤磁珠 2-3 次。
- 8、最后用适宜的溶液悬浮磁珠，表面结合了核酸片段的磁珠，用于进行下游实验。

链霉亲和素磁珠与抗体蛋白以及核酸的解离：

抗体/蛋白分离：将结合后的磁珠重悬于 0.1% SDS 中，置于 95°C 左右水中 5 分钟。

注意：这样可能导致蛋白活性下降。核酸分离：用 PH8.0 的 TE 溶解，95°C 温浴 5 分钟，可以解离约 98% 的核酸。