

Streptavidin Magnetic Beads

Cat# PM0012

产品概述

链霉亲和素(Streptavidin)是一种来源于阿维丁链霉菌 (*Streptomyces avidinii*) 的生物素 (Biotin) 结合蛋白, 大小为 55 kDa。生物素是一种天然存在的水溶性 B 族维生素, 能够以共价键连接方式结合到底物上, 如氨基酸和蛋白质。1 分子链霉亲和素可以和 4 个生物素分子非共价结合, 二者的结合是目前已知最强的非共价作用, 链霉亲和素因其对生物素独特的高亲和力而广泛用于生物医学领域。

Streptavidin Magnetic Beads 也称链霉亲和素磁珠或 SA 磁珠, 是粒径为 200nm 的纳米磁珠表面上共价结合了大量的高质量的链霉亲和素 (Streptavidin), 纳米级磁珠提供的超大比表面积, 具有更多的结合位点, 磁珠使用量更少, 非特异性吸附率低。本产品可以快速、高效、灵敏、特异性地与生物素 (Biotin) 标记的抗体、核酸、蛋白、多肽、凝集素等分子结合。主要用于分离纯化生物素标记的核酸、抗体、蛋白或相关复合物等, 用于免疫沉淀 (IP)、细胞分选、DNA-蛋白相互作用研究等。

产品性能

基质	硅基磁珠
配体	重组 Streptavidin 蛋白
粒径	200 nm
磁珠浓度	10 mg/mL
结合能力	≥ 0.5 mg 生物素化 IgG/ mL 磁珠
适用范围	分离纯化: 结合生物素化核酸等; 分子相互作用: IP、Co-IP、RNA Pulldown 等;

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
Streptavidin Magnetic Beads	PM0012-0.1ML	0.1 mL
Streptavidin Magnetic Beads	PM0012-1ML	1 mL
Streptavidin Magnetic Beads	PM0012-5×1ML	5×1 mL

储存方式

2~8℃保存, 不可冷冻。

使用说明

注意事项

1. 请勿高速离心、干燥或冷冻磁珠, 这些操作会导致磁珠聚集而降低结合能力。

2. IP 实验中不同类型的抗体与抗原结合的亲和性是有区别的，抗体与抗原结合还会受到 IP Lysis Buffer 的影响，因此可自行优化操作细节或者筛选及配制缓冲液进行实验。
3. 磁珠使用前应充分振荡均匀。磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
4. 本产品仅供科学研究使用。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

缓冲液配置

以下缓冲液成分可根据需要调整盐浓度和 PH，使用前用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤

Buffer 1 (适用于结合生物素化核酸): 10mM Tris-HCl(pH 7.5), 1mM EDTA, 1M NaCl, 0.01~0.2% Tween-20

Buffer 2 (适用于结合生物素化抗体/蛋白): PBS (pH7.4), 0.05% Tween 20, 可根据需要添加 0.01~0.1%BSA

IP Lysis Buffer: 50 mM Tris, 150 mM NaCl, 1% TritonX-100 (或者 1% NP-40), pH7.4,

Elution Buffer: 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

Neutralization Buffer: 1 M Tris-HCl, pH 8.5

结合生物素化核酸

1. 将磁珠置于漩涡振荡器上 20s, 振荡重悬磁珠。用移液器移取 100μL 磁珠到新的离心管中。将离心管置于磁力架上，静置 1min (此操作后续简称为磁性分离)，用移液器吸去上清液，从磁力架上取下离心管。
2. 加入 1mL Buffer 1 到离心管中，盖上离心管盖，充分振荡重悬磁珠。磁性分离，移去上清液。
3. 重复“步骤 2.2”一次。
4. 加入 500μL 的用 Buffer 1 稀释的生物素化核酸，充分振荡重悬磁珠。将离心管置于旋转混合仪上，室温旋转混合 30min。
5. 磁性分离，将上清液转移至新的离心管。按“步骤 2.2”的方法洗涤磁珠 3 次。
6. 根据后续实验的要求，加入合适的低盐缓冲液，重悬磁珠。至此结合生物素化核酸步骤完成。磁珠可用于后续操作。
7. 用户可以通过测定反应前后核酸的浓度，计算结合到磁珠上的核酸量 (反应前浓度-反应后浓度) × 反应溶液体积。

结合生物素化抗体/蛋白

1. 将磁珠置于漩涡振荡器上 20s, 振荡重悬磁珠。用移液器移取 100μL 磁珠到新的离心管中。将离心管置于磁力架上，静置 1min (此操作后续简称为磁性分离)，用移液器吸去上清液，从磁力架上取下离心管。
2. 加入 1mL Buffer 2 到离心管中，盖上离心管盖，充分振荡重悬磁珠。磁性分离，移去上清液。
3. 重复“步骤 3.2”两次，共洗涤 3 次。
4. 加入 1mL 的用 Buffer 2 稀释的生物素化抗体/蛋白，充分振荡重悬磁珠。将离心管置于旋转混合仪上，室温旋转混合 60min。
5. 磁性分离，将上清液转移至新的离心管。按“步骤 3.2”的方法洗涤磁珠 5 次。
6. 根据后续实验的要求，加入合适的缓冲液，重悬磁珠。至此结合生物素化抗体/蛋白步骤完成。磁珠可用于后续操作。

生物素化抗体免疫沉淀操作流程

贴壁细胞样品

1. 移去培养基，用 PBS 洗涤细胞两次，按比例加入 IP Lysis Buffer (注意添加 1mM PMSF 等相应的抑制剂) 裂解细胞，混匀后置于冰上静置 5~20 min (期间混匀几次)，使细胞充分裂解 (也可通过超声充分裂解细胞，30 s on, 10 s off, 振幅设定 35%, 2-3 个循环)。
2. 4℃、12,000rpm、15 min 离心收集上清液，置于冰上以备后续实验 (或置于 -80 °C 长期保存)。
3. 培养皿 IP Lysis Buffer 推荐使用体积:

培养皿大小/表面积	IP Lysis Buffer 体积
100 mm × 100 mm	500~1,000 μ L
100 mm × 60 mm	100~300 μ L
6 孔板	100~200 μ L

悬浮细胞样品

1. 4 °C、1000 g、3min，离心收集细胞，弃上清。
2. 用 PBS 洗细胞一次，4 °C、500~1,000 g、5min，弃上清。
3. 用预冷的 IP Lysis Buffer 重悬细胞，每 50mg 细胞使用 500 μ L IP Lysis Buffer（注意添加 1mM PMSF 等相应的抑制剂）裂解细胞，混匀后置于冰上静置 5~20 min（期间混匀 2~3 次），使细胞充分裂解（可通过超声充分裂解细胞，30 s on，10 s off，振幅设定 35%，2-3 个循环）。
4. 4 °C、12000rpm、15min 离心收集上清液，置于冰上以备后续实验（或置于-80 °C长期保存）。

血清样品

一般建议用 IP Lysis Buffer 稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 50~150 μ g/mL，置于冰上备用（或置于-20 °C长期保存）。

免疫复合物的制备

【注】：样品所需的量和孵育时间均依赖于每个特定的抗体-抗原体系，可能需要优化才能得到最大产量。

以下实验方案针对 2~10 μ g 生物素化抗体，根据需要可以按比例放大。

1. 在 1.5mL 离心管中，将每个样品的细胞裂解液与 2~10 μ g 生物素化抗体结合。每个免疫沉淀反应推荐的总蛋白量为 500~1,500 μ g。
2. 用 IP Lysis/Wash Buffer 将抗体以及制备好的样品稀释至 300~500 μ L。
3. 在室温下置于翻转混合仪翻转孵育 10min，使抗原和抗体充分结合，如结合能力较弱则可在室温反应 1h~2h 或 4°C 反应过夜，以形成免疫复合物。

免疫沉淀：

【注】：为保证磁珠均匀分布，使用前涡旋振荡 1 min，使其充分混匀。

4. 将 20~50 μ L 的链霉亲和素磁珠加入 1.5mL 离心管中，加入 500 μ L 预冷 PBS，轻柔混匀。将离心管放入磁力架中，使磁珠吸附到离心管的一侧，用移液器吸取并弃上清。
5. 向离心管中加入 200~500 μ L IP Lysis Buffer，轻微涡旋混匀 1 min，用磁力架收集磁珠，弃上清，重复一次。
6. 将抗原样品/抗体混合物加入装有磁珠的离心管中，漩涡振荡均匀，在室温下置于翻转混合仪翻转孵育 10min，如结合能力较弱则可在室温反应 1h~2h 或 4°C 2-4h，以形成免疫复合物。
7. 孵育完毕后，用磁力架收集磁珠，弃上清（可保留部分上清，用于检测免疫沉淀的效果）。向离心管中加入 1000 μ L IP Lysis Buffer，轻柔混匀磁珠 5~10min。将离心管放入磁力架中 15 秒，收集磁珠，弃上清，重复洗涤 3 次。可通过检测洗涤得到的洗涤液的 OD₂₈₀ 来判断是否洗涤完全，若 OD₂₈₀ 大于 0.05，需要适当增加洗涤次数。
8. 变性洗脱：向离心管中加入 80~100 μ L SDS-PAGE Loading Buffer (1 $\times$) 混合均匀，煮沸 10 min。将离心管放入磁力架中去除磁珠，保留含有目的抗原的上清，Western blotting 检测沉淀及共沉淀蛋白质。

【注】：如需保持蛋白活性，也可采用低 pH 洗脱：向离心管中加入 100 μ L Elution Buffer。保持混匀在室温下孵育 10min。用磁力架吸附磁珠，收集洗脱液至新的 EP 管中。每 100 μ L 洗出液中加入 20 μ L Neutralization Buffer 来中和低 pH 至 7.0-8.0

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

