

Biolinkedin® 链霉亲和素琼脂糖磁珠

包装清单

名称	货号	包装
链霉亲和素 琼脂糖磁珠	L-2303	5mL
	L-2303A	25mL

产品概述

Biolinkedin®链霉亲和素琼脂糖磁珠，也称 SA 琼脂糖磁珠，是专为高效、快速纯化生物素化配体而设计的新型磁性微球产品，可以在磁场作用下直接从生物样品中一步纯化出高纯度的目标分子，极大的简化了纯化工艺和提高纯化效率，适合科研和工业客户高通量地进行生物素化分子的纯化。利用生物素与链霉亲和素配体之间的相互作用纯化生物素或生物素化的蛋白、抗体等物质。链霉亲和素与生物素之间的亲和力很强，需要在变性条件下洗脱，链霉亲和素对亚氨基生物素的亲和力相对较弱，可以在 pH9.5-11.0 结合，pH4.0 时洗脱，不需要使用变性剂所以能更好的保持亲和素偶联物的活性。

链霉亲和素琼脂糖磁珠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，也可用于免疫沉淀（IP）、细胞分选、DNA-蛋白相互作用研究等。

产品特性

基质	高度交联的 4%磁性琼脂糖磁珠
配体	重组 Streptavidin 蛋白
浓度	磁珠体积占悬浮液体积的 20%
粒径	30~100μm
耐压流速	80~150cm/h (0.3MPa, 3bar)
结合能力	≥15mg 生物素化 IgG/mL 磁珠 ≥20mg 生物素化 BSA/mL 磁珠
适用范围	①分离纯化：结合生物素化蛋白、抗体等； ②分子相互作用：IP, Co-IP, RNA Pulldown 等。
保质期	在 2~8℃稳定保存两年

操作流程

（一）生物素化分子纯化操作流程

1. 使用前准备

1.1 缓冲液：

生物素或生物素化分子的纯化

缓冲液	配方
平衡/洗杂液	0.15M NaCl, 20 mM Na ₂ HPO ₄ , pH 7.2
洗脱液	8M 盐酸胍, pH1.5

注：盐酸胍洗脱与 SDS 会产生沉淀，若进行 SDS-PAGE 跑胶请不要使用盐酸胍洗脱，直接使用 0.1%SDS 煮沸 5min。

亚氨基生物素标签分子的纯化

缓冲液	配方
平衡/洗杂液	0.5M NaCl, 50mM 碳酸铵, pH 10.0
洗脱液	0.5M NaCl, 50mM 碳酸铵, pH 4.0

1.2 漩涡振荡器、旋转混合仪、移液器、枪头及磁力架

2. 样品准备

上样之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，用**平衡/洗杂液**对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者将样品置于**平衡/洗杂液**透析。样品在上样前建议离心并用 0.22μm 或 0.45μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率。

3. 磁珠准备

1) 将磁珠反复颠倒，充分混匀，使用移液器取适量的磁珠悬浮液，置于离心管中，将离心管置于磁力架，大约 1min，待溶液变澄清后，弃上清。

2) 再将离心管从磁力架上取下来，加入 5~10 倍磁珠体积平衡/洗杂液，吹打 5~10 次，将离心管置于磁力架上，大约 1min，待溶液变澄清后，弃上清，重复洗涤 2 次。

4. 样品纯化

1) **孵育**：将生物素化的样品加入到处理好的磁珠中，颠倒混匀。将离心管置于旋转混合仪上，室温孵育 30min 以上（具体时间根据结合效果调整）。

2) **洗杂**：孵育结束后，将离心管置于磁力架上，吸取上清液，作为流穿，置于 2~8℃，以备后续检测。向离心管中加入 10 倍磁珠体积的平衡/洗杂液，置于旋转混合仪上，洗涤 5~15min。洗涤结束后，将离心管置于磁力架上，收集洗杂液，置于 2~8℃，以备后续检测。重复上述步骤 2 次以上。

3) **洗脱**: 加入 3~5 倍磁珠体积的洗脱液混合均匀, 置于旋转混合仪上, 洗脱 5~15min。将离心管置于磁力架上, 用 1.5mL 的 Ep 管收集洗脱液。分别收集 2~5 管。

4) SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品 (包括流穿组分、洗杂组分和洗脱组分) 以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

(二) 生物素化抗体免疫沉淀操作流程

注意: 缓冲液自行准备或直接购买我司 IP 试剂盒。

免疫复合物的制备

注意: 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, 因而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 500~1500 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. 在室温下孵育 1~2h, 或 4 $^{\circ}$ C 2~4h, 以形成免疫复合物。

免疫沉淀:

注意: 为保证磁珠均匀分布, 使用前通过反复颠倒或轻微涡旋混匀瓶中磁珠。

1. 将 10~20 μ L 的 Biolinkedin[®] 链霉亲和素琼脂糖磁珠加入 1.5mL 离心管中。
2. 向磁珠中加入 500 μ L 预冷 PBS, 轻柔混匀。
3. 将离心管放入磁力架中收集磁珠到离心管的一边。去除上清。
4. 向离心管中加入 200~500 μ L IP Lysis/Wash Buffer。颠倒离心管数次或轻微涡旋混匀 1min。用磁力架收集磁珠。去除上清。
5. 将抗原样品/抗体混合物加入装有磁珠的离心管中, 保持混匀室温下孵育 1~2h, 或 4 $^{\circ}$ C 2~4h。
6. 用磁力架收集磁珠, 除去未结合的样品, 保存以备分析。
7. 向离心管中加入 1000 μ L IP Lysis/Wash Buffer, 轻柔混匀磁珠 5~10min。收集磁珠, 弃上清。再重复洗两次。
8. **变性洗脱**: 向离心管中加入 80~100 μ L SDS-PAGE Sample Loading Buffer (1 $\times$), 将样品置于 100 $^{\circ}$ C 水浴或者金属浴中加热 10min。通过磁力架分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。

备注: 如需保持蛋白活性, 也可采用以下洗脱方式。

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离心管 5~10min。通过磁力分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。每 100 μ L 洗出液中加入 20 μ L Neutralization Buffer 来中和低 pH。

注意事项

1. 进行实验操作之前, 请务必认真阅读本操作说明书。
2. 实验中 SA 与生物素化分子结合的能力是有区别的, 结合还会受到 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。

相关产品

货号	产品名称
L-1012	链霉亲和素磁珠
L-2301	链霉亲和素凝胶
L-2303	链霉亲和素琼脂糖磁珠