

# Biolinkedin® 链霉亲和素磁珠

## 包装清单

名称	货号	包装
链霉亲和素磁珠	L-1012	1mL
	L-1012A	5mL

## 产品概述

Biolinkedin®链霉亲和素磁珠，也称 Streptavidin 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，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。

## 产品特性

基质	硅基磁珠
配体	重组 Streptavidin 蛋白
粒径	200nm
磁珠浓度	10mg/mL
结合能力	≥0.5mg 生物素化 IgG/mL 磁珠
适用范围	①分离纯化：结合生物素化核酸等； ②分子相互作用：IP，Co-IP，RNA Pulldown 等。
存储条件	在 2~8℃ 稳定保存两年

## 操作流程

### （一）结合生物素化分子操作流程

#### 1. 使用前准备

1.1 缓冲液：以下是常用的缓冲液成分，用户可根据需要调整盐浓度和 pH

缓冲液	配方
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

1.2 磁力架、漩涡振荡器、旋转混合仪、移液器、枪头及离心管

#### 2. 结合生物素化核酸

2.1 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。

2.2 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。

2.3 重复“步骤 2.2”一次。

2.4 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。

2.5 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。

2.6 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。

2.7 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。

#### 3. 结合生物素化抗体/蛋白

3.1 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。

3.2 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。

3.3 重复“步骤 3.2”两次，共洗涤 3 次。

3.4 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。

3.5 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。

3.6 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。

## (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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ g。
2. 用 IP Lysis/Wash Buffer 将抗体以及制备好的样品稀释至 300~500 $\mu$ 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 20~50 $\mu$ L 的 Biolinkedin<sup>®</sup> 链霉亲和素磁珠加入 1.5mL 离心管中。
2. 向磁珠中加入 500 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ L 洗出液中加入 20 $\mu$ 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. 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。
3. 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。**
4. 如需生物素分子与 SA 磁珠分离，可采用：
  - ① 0.1% SDS，煮沸 5min；
  - ② pH=8.2，含 95%甲酰胺的 10mM EDTA 中，65 $^{\circ}$ C 5min 或 90 $^{\circ}$ C 2min。脱落率 95%。
5. 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。
6. 本产品仅供科学研究使用。

## 相关产品

货号	产品名称
/	磁力架系列