

# 链霉亲和素磁珠

## Streptavidin-Coupled Magnetic Beads

本产品 4°C 运输；保存于 4°C，禁止产品冻结，长期存放请保证试剂管竖立向上，磁珠浸没于保护液中，保质期 24 个月。

### 货号规格

货号	规格
YJ011	1 mL

### 产品简介

本产品采用新一代纳米表面生物技术，将链霉亲和素高密度共价偶联在超顺磁性纳米微球表面，可高效结合生物素化抗体、核酸、蛋白等配体分子，进行免疫沉淀实验，DNA- 蛋白相互作用等研究。与当前国际市场上同类产品相比，其具有更大的特异性表面区域及更多的表面抗体结合位点，非特异性结合低，使用起来简便高效。

### 产品参数

项目	参数
磁珠粒径	200 nm
磁珠浓度	10 mg/mL
结合能力	≥0.5 mg biotinylated IgG/mL of beads
应用范围	结合生物素化核酸，IP，Co-IP，RNA Pulldown等

### 操作步骤

#### 结合生物素化分子操作流程

##### 自备试剂

缓冲液	推荐配方
结合/洗涤缓冲液 I	PBS, 0.1%~0.5% detergent(TritonX-100, Tween 20 or NP40), 可根据需要添加 0.01-0.1% BSA, pH 7.4
结合/洗涤缓冲液 II	50 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.1%~0.5% detergent(TritonX-100, Tween 20 or NP40), pH 7.5

##### 结合生物素化核酸

1. 用移液器轻柔吹打 **链霉亲和素磁珠**（或涡悬振荡 20 sec），使其充分混悬，取 100  $\mu$ L 磁珠悬液置于 1.5 mL 离心管中（磁珠用量可根据具体情况调整）。将离心管置于磁力架上，静置 1 min，用移液器吸去上清液，从磁力架上取下离心管；
2. 加入 1 mL **结合/洗涤缓冲液 I** 到离心管中，盖上离心管盖，充分振荡重悬磁珠。将离心管置于磁力架上，静置 1 min，用移液器吸去上清液；



3. 重复一次步骤 2;
4. 加入 500  $\mu\text{L}$  用 **结合 / 洗涤缓冲液 I** 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 30 min;
5. 将离心管置于磁力架上,静置 1 min,用移液器将上清液转移至新的离心管(以备步骤 7 使用);按步骤 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) $\times$  反应溶液体积。

### 结合生物素化抗体/蛋白

1. 用移液器轻柔吹打 **链霉亲和素磁珠** (或涡悬振荡 20 sec),使其充分混悬,取 100  $\mu\text{L}$  磁珠悬液置于 1.5 mL 离心管中(磁珠用量可根据具体情况调整)。将离心管置于磁力架上,静置 1 min,用移液器吸去上清液,从磁力架上取下离心管;
2. 加入 1 mL **结合 / 洗涤缓冲液 II** 到离心管中,盖上离心管盖,充分振荡重悬磁珠。将离心管置于磁力架上,静置 1 min,用移液器吸去上清液;
3. 重复两次步骤 2,共洗涤三次;
4. 加入 1 mL 用 **结合 / 洗涤缓冲液 II** 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 60 min;
5. 将离心管置于磁力架上,静置 1 min,用移液器将上清液转移至新的离心管备用(上清液可用于检测抗体 / 蛋白是否存在残留);按步骤 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。

## 免疫(共)沉淀操作流程

### 自备试剂

缓冲液	推荐配方
结合 / 洗涤缓冲液 II	50 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.1%~0.5% detergent(TritonX-100, Tween 20 or NP40), pH 7.5
洗脱缓冲液	0.1 M~0.2 M Glycine, 0.1%~0.5% detergent, pH 2.5~3.1 (or 0.1 M citric acid, 0.1%~0.5% detergent, pH 2.5~3.1)
中和缓冲液	1 M Tris, pH 8.0

### 样本处理

1. 根据样品种类选择相应的处理方法:
  - A. **血清样品**: 若目标蛋白丰度较高,建议用 **结合 / 洗涤缓冲液 II** 或 1 $\times$ PBS(货号: PS110) 稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 10~100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,置于冰上备用(或置于  $-20^{\circ}\text{C}$  长期保存);
  - B. **悬浮细胞**: 离心收集细胞 ( $4^{\circ}\text{C}$ ,  $500\times g$ , 10 min),弃上清后称重,按每毫克细胞 50  $\mu\text{L}$  的比例用 1 $\times$ PBS(货号: PS110) 洗涤 2 次;按每毫克细胞 5~10  $\mu\text{L}$  的比例加入 **结合 / 洗涤缓冲液 II**,同时加入蛋白酶抑制剂(货号: GRF101),混匀后置于冰上孵育 10 min;离心收集上清液 ( $4^{\circ}\text{C}$ ,  $14,000\times g$ , 10 min),置于冰上备用(或置于  $-20^{\circ}\text{C}$  长期保存);



- C. 贴壁细胞：移去培养基，按每  $1.0 \times 10^5$  个细胞 150  $\mu\text{L}$  的比例用 1 $\times$ PBS(货号：PS110) 洗涤两次；用细胞刮刀刮落细胞，收集至 1.5 mL 离心管内，按每  $1.0 \times 10^5$  个细胞 20~30  $\mu\text{L}$  的比例加入 **结合 / 洗涤缓冲液 II**，同时加入蛋白酶抑制剂（货号：GRF101），混匀后置于冰上孵育 10 min；离心收集上清液（4 $^{\circ}\text{C}$ ，14,000 $\times g$ ，10 min），置于冰上备用（或置于 -20 $^{\circ}\text{C}$  长期保存）；
- D. 大肠杆菌：离心收集大肠杆菌（4 $^{\circ}\text{C}$ ，12,000 $\times g$ ，2 min），弃上清后称重，按每克菌体（湿重）10 mL 的比例用 1 $\times$ PBS(货号：PS110) 洗涤 2 次；按每克菌体（湿重）5~10 mL 的比例加入 **结合 / 洗涤缓冲液 II**，同时加入蛋白酶抑制剂（货号：GRF101），重悬菌体，超声裂解细胞，离心收集上清（4 $^{\circ}\text{C}$ ，12,000 $\times g$ ，10 min）。
- E. 组织样品：建议使用 **免疫（共）沉淀裂解液**（货号：PS105）进行裂解，具体操作如下：
- 把组织剪切成细小的碎片；
  - 按照每 20 mg 组织样本 150~250  $\mu\text{L}$  的比例加入裂解液；  
**注意：如果样本裂解不充分，可以适当提高裂解液的用量；若需要高浓度的蛋白样品，也可适当降低裂解液的用量。**
  - 用玻璃匀浆器匀浆，直至样本充分裂解；  
**注意：若组织样本非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液，通过强烈涡旋振荡使其裂解充分。**
  - 充分裂解后，10,000~14,000 $\times g$  离心 3~5 min，小心地将上清液（蛋白样品）移入新的离心管中，即可进行后续步骤。

#### 磁珠预处理

- 用移液器轻柔吹打 **链霉亲和素磁珠**，使其充分混悬，取 25~50  $\mu\text{L}$  磁珠悬液置于 1.5 mL 离心管中（磁珠用量可根据具体情况调整）；
- 加入 500  $\mu\text{L}$  **结合 / 洗涤缓冲液 II** 或 1 $\times$ PBS，用移液器轻柔吹打重悬磁珠，接着在磁力架上静置 1 min，待磁珠吸附到离心管侧壁上后，吸弃上清；
- 重复步骤 3 两次；

#### 抗体与磁珠结合

- 稀释：用 **结合 / 洗涤缓冲液 II** 或 1 $\times$ PBS 稀释生物素化抗体样品至终浓度为 10~25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，置于冰上备用；
- 结合：将 500  $\mu\text{L}$  上步稀释好的抗体加入预处理后的磁珠中，置于翻转混合仪上孵育（常温 2 h，4 $^{\circ}\text{C}$  4~6 h 或过夜），接着在磁力架上静置 1 min，待磁珠吸附到离心管侧壁上后，把上清液转移到新的离心管中备用（上清液可用于检测抗体是否存在残留），离心管中剩余的即为 **抗体 - 磁珠复合物**；  
**注意：结合过程中，磁珠可能会出现聚团或呈片状，属于正常现象，不会影响实验结果。**
- 洗涤：在上一步得到的 **抗体 - 磁珠复合物** 中加入 500  $\mu\text{L}$  **结合 / 洗涤缓冲液 II** 或 1 $\times$ PBS，用移液器轻柔吹打重悬磁珠，接着在磁力架上静置 1 min，待磁珠吸附到离心管侧壁上后，吸弃上清。再重复此步骤两次；

#### 抗原与抗体-磁珠复合物结合

- 结合：向洗涤后的 **抗体 - 磁珠复合物** 中加入 500  $\mu\text{L}$  步骤 1 制备好的样品，置于翻转混合仪上孵育（常温 2 h，4 $^{\circ}\text{C}$  4~6 h 或过夜），接着在磁力架上静置 1 min，待磁珠吸附到离心管侧壁上后，吸弃上清，离心管中剩余的即为 **抗原 - 抗体 - 磁珠复合物**；

9. 洗涤: 在上一步得到的 **抗原 - 抗体 - 磁珠复合物** 中加入 1 mL **结合 / 洗涤缓冲液 II** 或 1×PBS, 用移液器轻柔吹打重悬磁珠, 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上后, 吸弃上清。再重复此步骤三次;

10. 洗脱: 本操作说明书提供以下两种抗原洗脱方案, 操作者可根据后期检测的需要选择不同的抗原洗脱方法。

**变性洗脱:** 此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。向步骤 9 洗涤后的 **抗原 - 抗体 - 磁珠复合物** 中加入 60  $\mu$ L 1×SDS-PAGE 上样缓冲液 (货号: LT101) 混合均匀, 100°C 加热 10 min。待冷却后, 将离心管在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上后, 收集上清, 进行 SDS-PAGE 检测。

**非变性洗脱:** 此方法洗脱的样品保持原有的生物活性, 可用于后期功能分析。向步骤 9 漂洗后的 **抗原 - 抗体 - 磁珠复合物** 中加入 100  $\mu$ L **洗脱缓冲液**, 室温孵育 10 min; 将离心管在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上后, 收集上清液至新的离心管, 并立即加入 1  $\mu$ L **中和缓冲液** 将洗脱产物 pH 调节至中性, 用于后期功能分析。

## 常见问题 及对策

### 如何避免磁珠在储存或使用过程中可能出现的聚集情况?

**答:** 磁珠应保存在 2~8°C, 使用时应避免由于污染或干燥而导致的聚集。磁珠在低 pH 值的洗脱缓冲液中发生聚集属于正常现象, 不影响磁珠的正常使用。在 **结合 / 洗涤缓冲液** 和 **洗脱缓冲液** 中添加浓度为 0.1%(V/V) 的非离子型去垢剂 (如 Triton X-100、Tween-20 或 NP-40) 可有效防止磁珠聚集。经过低 pH 值洗脱操作的磁珠可以用结合缓冲液洗涤至中性, 然后用含有 0.1%(V/V) Tween-20 的 Tris buffer (pH7.5) 振荡重悬磁珠, 并用超声波水浴处理 2 min, 即可使磁珠恢复均匀状态, 以上处理均不影响磁珠的抗体结合效率。

### 磁珠在使用过程中出现结块现象?

**答:** 磁珠在极少数情况下会出现结块现象, 一般较难振荡打散, 从而导致分布不均匀, 这主要是因为磁珠在磁场中放置太久而牢固地结合在一起。用超声波水浴处理 2 min 即可打散磁珠, 但要注意超声处理也会使磁珠在样品溶液中捕获的抗体脱落, 因此磁珠在加样后洗脱前不宜使用该方法。

### 如何提高磁珠在免疫沉淀反应中的特异性?

**答:** 可以先将抗体与样品进行孵育, 形成 **抗体 - 抗原复合物**, 再用链霉亲和素磁珠捕获复合物。这种方法可以提高抗体与抗原的结合效率, 并降低磁珠与样品接触的时间, 从而提高沉淀产物的特异性。

### 如何解决磁珠易粘附管壁的现象?

**答:** 建议使用低吸附率的耗材进行磁珠操作。另外, 在缓冲液中添加 0.01%-0.1%(V/V) 的非离子型去垢剂 (如 Triton X-100、Tween-20 或 NP-40) 可以有效降低耗材对磁珠的粘附。

## 注意事项

1. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
2. 本产品仅限科研使用。

