**链霉亲和素磁珠（Streptavidin Magnetic Beads）**

**产品简介**

链霉亲和素-生物素（SA-Biotin）系统具有极高的结合亲和力（Kd=10^-15），在生物领域具有广泛的应用。本产品采用蛋白偶联技术将 SA 共价连接于固相载体表面，可高效结合生物素化抗体、核酸、蛋白等配体分子，可应用于免疫检测、分离蛋白、细胞分选、分离核酸、制备核酸探针以及 DNA-蛋白质相互作用等研究。本产品采用超顺磁性微球，粒径均一、形貌规整，有利于便捷高效地捕获目标分子，实现磁性分离。本产品可配套自动化设备进行高通量操作。

**应用范围：**

|  |  |
| --- | --- |
| **应用方向** | **简述** |
| 免疫检测、分离蛋白、细胞分选 | 特异性地结合生物素化抗体或抗原，作为免疫检测、ELISA 等固相反应载体，或用于分选细胞等。 |
| 分离核酸、制备核酸探针 | 特异性地结合生物素化的核酸探针，广泛应用于 DNA、RNA 杂交实验。 |
| DNA-蛋白质相互作用研究 | 特异性地结合生物素化的靶点 DNA/RNA 片段，可用于蛋白质与核酸相互作用研究。 |

**产品信息：**

|  |  |
| --- | --- |
| **产品信息** | **SA磁珠（2.8μm）** |
| 游离生物素（pmol/mg磁珠） | 1000 |
| 生物素化IgG（μg/mg磁珠） | 15 |
| 生物素化单链寡核苷酸（24nt）（pmol/mg磁珠） | 450 |
| 磁珠浓度 | 10mg/mL |
| 磁珠表面 | 亲水基团 |
| 保存溶液 | 1×PBS，含 0.1%（w/v）BSA，0.1%（v/v）proclin-300 |
| 保存条件 | 保存条件 |
| 2~8℃ | 2~8℃ |

**使用方法（本方法适用于链霉亲和素磁珠系列所有产品）：**

**一、使用前准备：**

**1、缓冲液**（以下为常用的缓冲液成分，可根据需要调整缓冲液的盐浓度及 pH）**：**

（1）Buffer I（适用于结合生物素化核酸）：10 mM Tris-HCl（pH 7.5），1 mM EDTA，1 M NaCl，

0.01%~0.1% Tween-20 ；

（2）Buffer II（适用于结合生物素化抗体/蛋白）：PBS，pH 7.4，含 0.05% Tween-20，可根据需要添加 0.01%~0.1% BSA；

（3）化学发光 Washing buffer：操作者根据需求配制洗液，使用时平衡至室温；

**2、其他：**磁性分离器、漩涡振荡器、旋转混合仪、移液器及吸头、离心管等。

**二、结合生物素化核酸操作方法：**

1、将磁珠瓶置于漩涡振荡器上 20 s，振荡重悬磁珠。用移液器移取 100 μL 磁珠到新的离心管中。将离心管置于磁性分离器上，静置 1 min（此操作后续简称为磁性分离），用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下离心管。

注：操作者可根据生物素化分子的多少，参考产品信息表中磁珠的载量，计算需要取用的磁珠量。建议生物素化分子的加入量为磁珠载量的 1~2 倍，以使磁珠饱和。

2、加入1 mL Buffer I 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。

注：当步骤 1 取用磁珠体积大于 1 mL 时，加入与磁珠体积相同的 Buffer I。

3、重复“步骤 2”一次。

4、加入 500 μL 的用 Buffer I 稀释的生物素化核酸（使磁珠浓度为 2 mg/mL），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、磁性分离，将上清液转移至新的离心管。

6、按“步骤 2”的方法洗涤磁珠三次。

7、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。

8、操作者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﹞。

**三、结合生物素化抗体/蛋白操作方法：**

1、将磁珠瓶置于漩涡振荡器上 20 s，振荡重悬磁珠。用移液器移取 100 μL 磁珠到新的离心管中。磁性分离，用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下离心管。

注：操作者可根据生物素化分子的多少，参考产品信息表中磁珠的载量，计算需要取用的磁珠量。建议生物素化分子的加入量为磁珠载量的 1~2 倍，使磁珠饱和。

2、加1 mL Buffer II到离心管中入，盖上离心管盖，充分振荡重悬磁珠。磁性分离，移去上清液。

注：当步骤 1 取用磁珠体积大于 1 mL 时，加入与磁珠体积相同的 Buffer II。

3、重复“步骤 2”两次，共洗涤三次。

4、加入 1 mL 用 Buffer II 稀释的生物素化抗体/蛋白（使磁珠浓度为 1 mg/mL），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、磁性分离，将上清液转移至新的离心管。

6、按“步骤 2”的方法洗涤磁珠五次。

7、根据后续实验的要求，加入 Buffer II 或其他合适的缓冲液，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。

**四、磁微粒化学发光免疫诊断操作方法：**

1、调整磁珠至合适浓度（建议0.8mg/ml），于漩涡振荡器上20 s，振荡重悬磁珠。用移液器移取50 μL磁珠至96孔板中，磁性分离，用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下96 孔板。

2、每孔加入 100 μL 生物素化捕获抗体，充分重悬磁珠，37℃恒温箱中孵育 15min 后，磁性分离，用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下 96 孔板。

3、每孔加入 200 μL 的 Washing buffer，充分重悬磁珠，磁性分离，用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下 96 孔板，该步骤再重复 2 次，共洗涤 3 次。

4、每孔加入 50 μL 待测物标准品或待测样本，充分重悬磁珠，37℃恒温箱中孵育 15min 后，磁性分离，用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下 96 孔板。

5、每孔加入 200 μL 的 Washing buffer，充分重悬磁珠，磁性分离，用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下 96 孔板，该步骤再重复 2 次，共洗涤 3 次。

6、每孔加入 100 μL 酶标记抗体，充分重悬磁珠，37 ℃恒温箱中孵育 15min 后，磁性分离，用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下 96 孔板。

7、每孔加入 200 μL 的 Washing buffer，充分重悬磁珠，磁性分离，用移液器吸去上清液，从磁性分离器上取下 96 孔板，重复 2 次，共洗涤 3 次。

8、每孔加入 150 μL 的底物液，充分重悬磁珠，避光孵育 5min。

9、将 96 孔板放入化学发光仪读数，并进行相应数据处理。

**五、生物素与 SA 磁珠分离操作方法：**

如需生物素与 SA 磁珠分离，可采用以下两种方法：

方法一：0.1% SDS，煮沸 5min；

方法二：pH=8.2，含 95%甲酰胺的 10mM EDTA 中，65℃ 5min 或 90℃ 2min。

**注意事项：**

1、应避免对磁珠进行冷冻等操作。

2、为减少磁珠损失，每次磁性分离的时间应不少于 1 min。

3、从磁珠保存管中移取磁珠前应充分重悬均匀。操作过程中应避免产生气泡。

4、在免疫沉淀或纯化时，建议设计阳性和阴性对照组。

5、建议使用质量好的移液器吸头和反应管，避免因粘附磁珠及溶液而造成损失。

6、生物素化分子的大小会影响磁珠的载量。用户需要根据实验确定磁珠对特定生物素化分子的量。

7、生物素化分子的加入量应为磁珠载量的 1~2 倍，以使磁珠饱和。

8、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。