

**Note:** 请勿离心，轻柔混匀后使用。

## 性能指标

<b>应用范围</b>	纯化生物素标记的蛋白，用于 IP, CoIP, DNA-蛋白互作研究。
<b>凝胶属性</b>	磁珠，平均粒径 3 μm。
<b>凝胶载量</b>	1mg 链霉亲和素磁珠，可结合 ≥20μg 生物素化抗体，或 ≥400pmol 生物素化寡核苷酸或多肽，或 ≥1000pmol 游离生物素。
<b>主要成分</b>	保存于含防腐剂的 PBS 中。

## 注意事项

1. 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。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品以磁珠悬液形式提供亲和磁珠，磁珠悬液中亲和磁珠的含量为 25%，使用前先温和重悬磁珠悬液，然后按照需求取用。
4. 配套使用的相关试剂，需实验室自备。

## 使用方法

### 1. 目标蛋白样品制备

#### 1) 血清及分泌表达目标蛋白样品处理

收集血清或培养基上清，检测目标蛋白浓度。如果目标蛋白质浓度较高，建议用 1×PBS 稀释至蛋白质终浓度为 10~100μg/mL，以备后续实验。

#### 2) 细胞内表达目标蛋白样品处理

- a. 将悬浮细胞或贴壁细胞从细胞培养瓶上吹下来后转入离心管中，1000rpm 离心 5min，弃上清。
- b. 用预冷至 4°C 的 1×PBS 重悬细胞，1000rpm 离心 3min，弃上清。重复一次。
- c. 根据细胞的量加入相应体积的细胞裂解液，反复吹打后冰上放置 10~20min。

**注：一般 1mL 细胞裂解液可以处理约 0.5~1×10<sup>7</sup> 个细胞。为了避免目标蛋白质降解，您可以添加蛋白酶抑制剂（PMSF 工作浓度：0.1~1.0mmol/L）。**

- d. 用超声破碎仪处理细胞裂解液，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。冰上放置 30min 之后，12000rpm，4°C 离心 10min。取上清，以备后续实验。

**注：若无超声破碎仪，也可使用削成斜口的枪头或注射器反复吹吸，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。**

### 2. 装柱及孵育

#### 1) 链霉亲和素磁珠准备

- a. 温和重悬链霉亲和素磁珠，混合均匀，取 40μL 磁珠悬液（约含 10μL 磁珠）至离心管中。
- b. 加入 500μL 的 1×PBS 轻柔重悬清洗磁珠，磁力架上静置 10 sec 后，弃上清，重复上述步骤 2 次。

**注：多个样品时，可将磁珠重悬后分装到数个反应管中分别进行反应。**

#### 2) 目的蛋白与链霉亲和素磁珠的结合

- a. 孵育：清洗后的磁珠中加入 500μL 准备好的样本，摇床上室温孵育 2h，也可 4°C 孵育过夜或更长时间。
- b. 清洗：孵育完毕后，磁性分离，弃上清。加入 500μL 1×PBST，温和混匀，清洗磁珠，磁性分离，弃上清。重复 3 次。

## For Research Use Only

- c. 加入 20 $\mu$ L 1 $\times$ PBS 和 5 $\mu$ L 5 $\times$ 上样缓冲液，煮样 5min，冷却至室温并离心。
- d. 取上清进行 SDS-PAGE 实验，以备后续的 Western Blotting 检测。

## 酸性洗脱法

酸性洗脱方式，成本低，操作时间短，一般不引起蛋白变性，便于对蛋白的后续分析检测。

- a. 将预冷的 0.5mL 或 20 倍磁珠体积，pH 3.0 的酸性洗脱液加入上述沉淀，悬浮磁珠，室温孵育 5min。  
**注：酸性环境会缩短免疫磁珠的使用寿命，应尽量缩短磁珠与酸性洗脱液的接触时间，建议不超过 10min。**
- b. 孵育结束后，磁性分离，转移上清到新的离心管中，并立即加入 1/10 体积的 pH 8.0 的中和液，混匀。
- c. 按照后续实验需求处理和保存蛋白质。

## 背景信息

链霉亲和素磁珠由高质量的链霉亲和素(Streptavidin, SA)与磁珠共价偶联而成，能够快速、高效、灵敏、特异性地与生物素(Biotin)标记的抗体、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抗体、蛋白或相关复合物等，用于免疫沉淀、DNA-蛋白相互作用研究等。

## 储存方法

4 $^{\circ}$ C可保存 12 个月。

## For Research Use Only