

链霉亲和素磁珠

Catalog Number: EA-IP-011M

Note: 请勿离心，轻柔混匀后使用。

性能指标

应用范围	纯化生物素标记的蛋白，用于 IP, CoIP, DNA-蛋白互作研究。
凝胶属性	磁珠，平均粒径 3 μm 。
凝胶载量	1mg 链霉亲和素磁珠，可结合 $\geq 20\mu\text{g}$ 生物素化抗体，或 $\geq 400\text{pmol}$ 生物素化寡核苷酸或多肽，或 $\geq 1000\text{pmol}$ 游离生物素。
主要成分	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 10~100 $\mu\text{g/mL}$ ，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 $0.5\sim 1\times 10^7$ 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 40 μL 磁珠悬液（约含 10 μL 磁珠）至离心管中。
- b. 加入 500 μL 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 500 μL 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 500 μL 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 μ L 1 $\times$ PBS 和 5 μ 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°C可保存 12 个月。