使用说明书

【产品名称】1μm 羧基聚合物磁珠

【产品型号】MPS100/Carboxyl

【目 录 号】PC11

【产品介绍】

Enriching Beads®-Immunological diagnosis 系列即为聚合物磁珠，它以聚苯乙烯微球为内核，不仅可以使微球获得较大的浮力而且提供一个均匀一致的尺寸。表面涂覆高分子聚合物的涂层使磁性微球具有低非特异性吸附的优势，在免疫诊断领域为降低背景信号和提高灵敏度奠定了良好的基础。表面修饰丰富的羧基可以与核酸、蛋白、多肽等生物分子的伯氨基共价偶联形成稳定的酰胺键。

【产品规格】

平均粒径	1μm
固形物浓度	10mg/mL
分散液	H_2O
表面配基含量	100~200μmol/g

【产品特点】

- ✧ 超顺磁性粒子，即将其放在磁场中有磁性，磁场撤去后无磁性记忆；
- ✧ 磁性分离速度快且分离温和，丰富的配体特异性结合位点；
- ✧ 可靠的均匀一致性和低的批内、批间差；
- ✧ 低非特异性吸附，单分散，低沉降速率；

【作用对象】适用于含伯氨基的蛋白、多肽、核酸、药物等生物配体。

【有 效 期】两年(2~8 ℃保存)。

【偶联准备】

1. 离心管或者其它符合要求的试剂管（可以透过磁性）；
2. 0.01M NaOH
3. 反应缓冲液：100mM MES, pH 5.0；*推荐产品及订货号：Sigma-Aldrich，V900336；*
4. 封闭缓冲液：0.1M Tris-HCl, pH7.4；
5. 清洗缓冲液： PBST(含 0.1% Tween-20), pH 7.4；
6. 保存液：PBST(含 0.01% Tween-20 和 0.02% NaN_3), pH 7.4；
7. 需要将待偶联的目标蛋白、抗体等生物配体溶解于反应缓冲液中；
8. 偶联活化剂 A (EDC•HCl 溶液)：用 100mM MES, pH 5.0 缓冲液将 EDC•HCl 溶液配置为浓度 10mg/mL，现配现用。*CAS:25952-53-8; 推荐产品及订货号：*

Sigma-Aldrich，E7750；

9. 偶联活化剂 B1 (EDC•HCl 溶液)：用 100mM MES, pH 5.0 缓冲液将 EDC•HCl 溶液配置为浓度 50mg/mL，现配现用。
10. 偶联活化剂 B2 (SNHS 溶液)：用 100mM MES, pH 5.0 缓冲液将 SNHS 溶液配置为浓度 50mg/mL，现配现用。*CAS: 106627-54-7; 推荐产品及订货号：Sigma-Aldrich，56485；*

【操作流程：EDC 一步法蛋白、抗体偶联】

1. 将磁珠悬浮液混合均匀，取 1mL 磁珠（10mg）加入到 2mL 离心管中，磁性分离去除上清液；
   注："磁性分离"指将离心管置于外加磁场中，至磁珠吸附完全，约需要 30s。
2. 加入 1mL 反应缓冲液，混合重悬磁珠，磁性分离去除上清液（重复 1 次）；
3. 加入 400µL 反应缓冲液，混合重悬磁珠；
4. 加入~500µg 抗体或者蛋白质溶液（提前溶解于反应缓冲液中），室温旋转混合 30min；
5. 加入 100µL 现配偶联试剂 A（EDC.HCl 溶液），用反应缓冲液将溶液总体积补至 1mL，室温旋转混合 1hr，磁性分离去除上清液；
   注：建议优化 EDC 用量以获得最佳结果，如 EDC:磁珠(w:w)在 1:1 和 1:100 间。
6. 加入 1mL 封闭缓冲液，混合重悬磁珠，室温旋转混合 2hr，磁性分离去除上清液；
7. 加入 1mL 清洗缓冲液，混合重悬磁珠，室温旋转混合 10-30min，磁性分离去除上清液(重复 3~5 次)；
8. 将上述磁珠分散于保存液（亦可根据需要使用其他保存试剂）中得一定浓度的产品。

【操作流程：EDC/SNHS 两步法蛋白、抗体偶联】

1. 将磁珠悬浮液混合均匀，取 1mL 磁珠（10mg）加入到 2mL 离心管中，磁性分离去除上清液；
2. 加入 1mL 0.01M NaOH，混合均匀，磁性分离去除上清液（重复 1 次）；
3. 加入 1mL 去离子水，混合重悬磁珠，磁性分离去除上清液（重复 2 次）；
4. 加入 1mL 反应缓冲液，混合重悬磁珠，放置于旋转混合仪上；
5. 立即配制偶联活化剂 B1 和 B2；
6. 立即将混合仪上的磁珠液磁性分离去除上清液，并加入 300µL 反应缓冲液重悬磁珠；
7. 立即加入新鲜配制的 100µL 偶联活化剂 B1 和 100µL 偶联活化剂 B2，混匀，室温旋转混合 30min；
   注：建议优化偶联活化剂 B1 和 B2 的用量以获得最佳结果。
8. 磁性分离去除上清液，立即加入 1mL 反应缓冲液将磁珠重悬，磁性分离去除上清液（重复 1 次）；

注：该步骤需快速操作，不宜超过 30min。

9. 立即加入 500μL 反应缓冲液将磁珠重悬，加入~500μg 抗体或者蛋白质溶液（提前溶解于反应缓冲液中），用反应缓冲液将溶液总体积补至 1mL，室温旋转混合 2hr；
10. 磁性分离去除上清液，加入 1mL 封闭缓冲液，混合重悬磁珠，室温旋转混合 1hr，磁性分离去除上清液；
11. 加入 1mL 清洗缓冲液，混合重悬磁珠，室温旋转混合 10~30min，磁性分离去除上清液（重复 3~5 次）；
12. 将上述磁珠分散于保存液（亦可根据需要使用其他保存试剂）中得一定浓度的产品。

【操作流程：EDC 一步法氨基修饰寡核苷酸偶联】

1. 将磁珠悬浮液混合均匀，取 1mL 磁珠悬浮液（10mg）加入到 2mL 离心管中，磁性分离，小心吸取上清液；
2. 加入 1mL 去离子水，混合重悬磁珠，磁性分离吸取上清液（重复 1 次）；
3. 加入 1mL 100mM MES pH5.0 的缓冲液，涡旋均匀 1min，磁性分离，磁性分离吸取上清液；
4. 加入 300μL 100mM MES pH5.0 的缓冲液，重悬磁珠；
5. 将氨基修饰的寡核苷酸 10~50nmoL 溶于 100μL 100mM MES pH5.0 的缓冲液，然后加入至上述含有磁珠的缓冲液中，室温旋转混合 30min；
6. 称取 20mg EDC 溶于预冷的 0.2mL 100mM MES pH5.0 的缓冲液，然后取 100μL 迅速加入上述混合液中，旋涡 30s 后，室温旋转混合 3 小时以上或者过夜；
7. 磁性分离去除上清液，移除上清液，加入 1mL 50mM Tris 0.01% Tween20 pH8.0 清洗磁珠-寡核苷酸复合物 3 次，每次 30min 进行封闭处理；
8. 加入 1mL PBS pH7.4 清洗上述磁珠-寡核苷酸复合物 3 次；
9. 磁性分离去除上清液，将其保存于 10mM Tris 1mM EDTA pH8.0 中备用；

【注意事项】

1. 偶联过程中不应含有除目标配体外含伯胺基团的物质，如：甘氨酸、BSA、Tris-HCl 等，请注意您的抗体或者蛋白溶液是否含有上述物质；
2. 磁珠使用和保存过程中应避免反复冻融；
3. 不同抗体和蛋白与羧基磁珠结合能力不同，客户可自行优化加入不同的抗体或者蛋白质量；
4. 保存液中可根据需要添加 BSA 等物质，或使用其他缓冲组分；
5. 上述 Protocol 可以规模放大或者缩小进行操作；

6. 蛋白或者抗体偶联完成后需要验证蛋白或者抗体活性，可通过调节偶联过程中 pH、EDC 加入量、抗体加入量来优化，以改善抗体的偶联载量及活性（不同抗体的最适偶联 pH 不一致，可从 pH 4.5~6.5 之间优化）；

【其它】

该产品可配合多功能磁力架（订货号 CQT-0011）、16 位磁力架（订货号 CQT-0001）、进行手动操作。

英茂诚生化科技（上海）有限公司
地址：上海市国权北路 1688 号 A8 座 303 室
电话：021-55809378
网址：www.bio-enriching.com
电子邮件：marketing@bio-enriching.com
版权声明：© 英茂诚生化科技（上海）有限公司保留本使用说明书的所有权利。版本：V.PT20190121