

链霉亲和素 Streptavidin 说明书

货号: S9171

规格: 1mg/5mg/10mg

纯度: $\geq 95\%$

活性: $\geq 14\text{U/mg}$

PI: 6.0

产品来源: 大肠杆菌发酵工程菌株。

分子量: 约 58KDa, 由 4 条基本相同的多肽链组成。

产品简介:

链霉亲和素是一种生物素结合蛋白, 像亲和素一样, 链霉亲和素具有高亲和力, 每摩尔蛋白质结合 4 摩尔生物素。链霉亲和素缺乏存在于亲和素上的碳水化合物侧链, 因此, 当依赖于形成亲和素/生物素复合物的蛋白质应用中使用, 链霉亲和素常常表现出比亲和素更低的非特异性结合水平。

本产品已广泛应用于包被免疫检测用微孔板, 制备 SA 偶联酶制剂 (如 SA-HRP、SA-AP 等), SA 偶联荧光素 (即荧光染料, 如 SA-FITC, SA-Cy2, SA-Cy3 等)、SA 偶联磁珠等, 进而参与酶联免疫吸附和酶催化放大实验, 免疫组化化学、亲和色谱填料制备、含 StrepTag II 标签 (8-AA 寡肽) 的蛋白纯化、生物传感器、生物纳米微球、预靶向制药研究和生物芯片被料等生物技术领域。

使用方法: (仅供参考)

1. 微孔板包被

- 1) 用碳酸钠缓冲溶液 (pH 9.6) 溶解冻干粉, 将浓度稀释成 3-10 $\mu\text{g/ml}$ (客户可设定梯度进行实验)
注意: SA 等电点是 6.0。
- 2) 用移液器吸取 100 μl /孔, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜包被或者 37 $^{\circ}\text{C}$ 包被 3h;
- 3) 洗涤: 倒尽板孔中液体, 加 200 μl 洗涤液, 静放三分钟, 反复三次, 最后将反应板倒置在吸水纸上, 使孔中洗涤液流尽, 扣干。
- 4) 后续进入封闭、洗涤、抗原抗体结合流程。
- 5) 若不立即进入下游实验, 包被板需要进行烘干保存时。包被前, 将包被液中加入 20% 蔗糖作为活性保护剂。

2. 偶联磁珠 (以羧基磁珠为例)

A. 磁珠表面羧基活化

1. 混匀磁珠后, 取 100 μL 羧基磁珠到 1 mL 离心管中, 磁性分离去除上清液, 用 200 μL MEST 溶液 (100 mM MES, pH 5.0, 0.05% Tween 20) 进行磁性分离洗涤 2 次, 然后移除上清液;
2. 迅速加入新鲜配制的 100 μL EDC 溶液 (10 mg/mL, 以上述 MEST 溶液作分散剂) 和 100 μL NHS (10 mg/mL, 以上述 MEST 溶液作分散剂) 溶液到装有磁珠的离心管中, 漩涡混匀使磁珠充分悬浮, 25 $^{\circ}\text{C}$ 活化 30 min, 该期间保持磁珠的悬浮状态 (可利用垂直混合仪进行颠倒混匀); 经

过上述步骤之后，磁珠表面的羧基已经活化，可以与带有伯氨基的生物配体进行共价偶联。（活化状态不宜长时间保存，建议立即进行偶联）。

B. 磁珠与生物配体的共价偶联

1. 磁性分离去除上清液，加入 50 μg ~200 μg 生物配体（合适用量及浓度需要根据具体实验进行优化，保持溶液 $\text{pH}\approx 8.0$ ，可加入 0.05% Tween 20 以提高磁珠分散性，避免缓冲体系中存在除生物配体以外含有伯氨基的试剂），轻柔地混匀；

2. 25 $^{\circ}\text{C}$ 偶联 2 h，或 25 $^{\circ}\text{C}$ 偶联 1 h 后放置 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置过夜，偶联期间保持磁珠的悬浮状态（可利用垂直混合仪进行颠倒混匀）；

3. 离心管置于磁性分离架上磁性分离去除上清液，加入 200 μL PBST 溶液（ pH 7.2，且含 1%BSA）重悬磁珠（可根据需要进行超声），25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 1 h 封闭磁珠表面未反应的活化羧基基团，该期间保持磁珠的悬浮状态（可利用垂直混合仪进行颠倒混匀）；

4. 离心管置于磁性分离器上磁性分离去除上清液，每次用 200 μL PBS 溶液（ pH 7.2）或保存溶液洗涤 3 次后，重新悬浮于保存溶液中（可根据需要来确定保存溶液的加入量，以调整偶联配体磁珠的浓度），保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 。如果固定的生物配体稳定，可以在保存溶液中加入 0.02%（w/v）叠氮化钠（ NaN_3 ）作为抑菌剂。

具体实验步骤可根据实验需求进行调整。

注意：

1. 链霉亲和素冻干粉易溶于水或含盐缓冲液，溶解性可达 5 mg / ml 或更高。链霉亲和素是在 PBS 缓冲液中冻干的,每 3mg 冻干粉含有 1mg 链霉亲和素，2mg 盐；
2. 在极少数情况下，链霉亲和素溶解在去离子水或低离子强度的缓冲液中时，在溶解或冷冻和重新融化后，都可能含有少量不溶物。在含盐的缓冲液（例如 PBS）中通常不会出现这种情况；
3. 如果观察到未溶解的物质，可以通过离心将其除去，不会对总蛋白产生很大的影响；
4. 较宽的 pH 和温度范围内链霉亲和素-生物素复合物的结构是比较稳定的。复合物通常仅在导致蛋白质不可逆变性的条件下被变坏。生物素类似物（例如 2-亚氨基生物素）与蛋白质可逆结合，在高 pH（ >9.5 ）下形成复合物，在低 pH（ <4 ）下解离；
5. 冻干粉溶解后应避免反复冻融，建议分装成小包装后分别冻存；
6. 溶解后立即使用效果最好，不能 4 $^{\circ}\text{C}$ 长期存放；
7. 若用于 ELISA 或 CLIA 固相载体包板和硝酸纤维素膜划线包被，需要烘干保存的，包被液或缓冲液中需加入 20%蔗糖作为活性保护剂。