

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures

Version 2.0

链霉亲和素

Streptavidin

Do not eat Store at -20° C & in the dark



Cat.No. MG56668 Size : 1mg / 10mg / 100mg
CAS : 9013-20-1
Purity ≥ 95% Activity ≥ 14U/mg PI : 6.0

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com.E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

产品背景

链霉亲和素是一种来源于阿维丁链霉菌 (*streptomyces avidinii*) 的生物素结合蛋白质, 其非特异性结合远比亲和素低, 且与蛋清亲和素在中性 pH 值具有净正电荷和包含大约 7% 的碳水化合物相比, 链霉亲和素蛋白具有在中性 pH 值几乎没有净电荷, 不含有碳水化合物等更有利的化学性质, 所以它被广泛用来作为抗生物素蛋白的替代品。在结构上, 链霉亲和素以同源四聚体的形式存在, 每摩尔的四聚体分子可结合四摩尔的生物素分子。

本品系大肠杆菌发酵工程菌株发酵所得, 分子量约 58KDa, 由 4 条基本相同的多肽链组成。本制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材料等生物技术领域。

结合能力

链霉亲和素每一个亚基结合生物素分子。

使用方法 (仅供参考)

1. 微孔板包被

1) 用碳酸钠缓冲液 (pH 9.6) 溶解冻干粉, 将浓度稀释成 3-10 μ 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 μ L / 孔, 4 $^{\circ}$ C 过夜包被或者 37 $^{\circ}$ C 包被 3 h;

3) 洗涤: 倒尽板孔中液体, 加 200 μ L 洗涤液, 静放 3 min, 反复 3 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 μ L 羧基磁珠到 1mL 离心管中, 磁性分离去除上清液, 用 200 μ L 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 μ L EDC 溶液 (10 mg/mL, 以上述 MEST 溶液作分散剂) 和 100 μ L 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 $^{\circ}$ 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 μ g~200 μ g 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 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 $^{\circ}$ C 偶联 2 h, 或 25 $^{\circ}$ C 偶联 1 h 后放置 4 $^{\circ}$ 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 μ L PBST 溶液 (pH 7.2, 且含 1% BSA) 重悬磁珠 (可根据需要进行超声), 25 $^{\circ}$ 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 μ L 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 $^{\circ}$ 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 (NaN₃) 作为抑菌剂。具体实验步骤可根据实验需求进行调整。

注意事项

1. 链霉亲和素冻干粉易溶于水或含盐缓冲液, 溶解性可达5mg / 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破坏。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°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。

储存条件

储存于-20°C避光, 稳定保存2年。

产品仅供科学研究 禁止用于临床诊断、治疗

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.