

Carboxyl-Terminated Magnetic Beads 羧基磁珠



产品信息:

货号	规格
FB-105	30mg

产品介绍:

Carboxyl-Terminated Magnetic Beads 是均匀的，表面覆盖有高密度羧基官能团的二氧化硅基质的磁珠。它的亲水性表面基团保证了磁珠在实验过程中，具有极低的非特异性吸附率、且有良好的分散性，并易于在各种缓冲液中处理。磁珠表面上高密度的具有悬垂功能性的羧基基团，可以通过形成稳定的酰胺键共价结合含伯胺的配体。Carboxyl-Terminated Magnetic Beads 适合结合大的蛋白质。Long-arm Carboxyl-terminated Magnetic Beads 建议结合小分子肽回收，因为长臂的亲水连接基团可以减少位阻现象。

Carboxyl-Terminated Magnetic Beads 可以完美地作为各种生物分离实验的亲亲和物质，将分子、细胞和部分细胞提取物进行提炼纯化。在与配体结合后，将磁珠添加到含有目标分子的样品中，然后混合、孵育、洗涤和洗脱目标分子。



产品特点:

- 便于使用
- 稳定的共价键，低水平的配体泄漏
- 可重复使用的免疫亲和基质
- 极低的非特异性结合率
- 可固定 1-10mg 蛋白或 0.1-1mg 多肽/ml 的磁珠

用途:

用于纯化抗体，蛋白质/肽，DNA / RNA；细胞筛选、免疫沉淀

产品属性:

组成	二氧化硅包覆氧化铁磁珠，表面覆盖有羧基官能团	
磁珠尺寸 (直径)	~1 μ m; ~2.5 μ m; ~5 μ m	
稳定性	短期保存 (<1 小时): pH 3-11; 长期保存: pH 4-10 温度: 4°C -140°C; 可溶于大多数有机溶剂	
磁化	~40-45 EMU/g	
磁化的类型	超顺磁性	
保存状态	冻干粉	
组分密度	1 μ m Magnetic Beads	~200 μ mole (1 μ m beads) / g of Beads
	2.5 μ m Magnetic Beads	~190 μ mole (1 μ m beads) / g of Beads
	5 μ m Magnetic Beads	~180 μ mole (5 μ m beads) / g of Beads
	(FB-105) 1 μ m Long-Arm Magnetic Beads	~160 μ mole (1 μ m beads) / g of Beads
	2.5 μ m Long-Arm Magnetic Beads	~190 μ mole (1 μ m beads) / g of Beads
	5 μ m Long-Arm Magnetic Beads	~130 μ mole (1 μ m beads) / g of Beads
储存	室温运输 4°C保存	

操作步骤:

提示:

1. 强烈建议在实验过程中进行滴定优化，以确定每个实验中应用的磁珠数量。该协议可以相应地放大和缩小。
2. Coupling buffers 应具有最小的离子强度，且不应含有任何具有氨基（如 Tris）或羧基（如醋酸盐、柠檬酸盐）的成分。但 Wash buffers 或者 Storage buffers 可含有氨基或羧基。

所需耗材和试剂:

磁力分离器（适用于手动操作）：根据实验时生物样品的体积，使用者可以选择一下不同型号的磁力分离器。

Coupling Buffer: 10 mM K₃PO₄, 0.15 M NaCl, pH 5.5 或者 0.1 M MES 缓冲液, 0.15 M NaCl, pH 4.5-5.5.

EDC [1-ethyl-3 (3-dimethylaminopropyl) carbodiimide], Sigma, Cat# E7750

NHS (N-hydroxysuccinimide), Sigma, Cat#56480

Wash/Storage Buffer: 10 mM Tris, 0.15 M NaCl, 0.1% (w/v) BSA, 1mM EDTA, 0.01%叠氮化钠, pH 7.5

Blocking buffer: 1 M Glycine, pH 8.0

I. 一步法偶联实验过程:

提示: 一步偶联方式适用于不含羧基基团的配体, 因为羧基基团可能与缓冲液中 EDC 反应并导致配体聚合。但是, 由于该方法简单且通常具有较高的产率, 因此它仍然是首选的耦合方法。为了补偿因为聚合造成的配体损失, 可以在偶联反应中加入较多的配体。

A. 磁珠准备

1. 将 30mg 磁珠与 1ml 的 Coupling buffer 在离心管中混合, 并通过涡旋或移液器吹吸方式充分混合。
2. 将试管插入磁力分离器中 1-3 分钟, 直到上清液变的澄清。将试管留在磁力分离器中的同时, 用移液器吸出并丢弃上清液。
3. 磁珠准备用来偶联。

B. 蛋白的偶联

1. 用 Coupling buffer 制备 1ml 蛋白质溶液 (0.5-1mg/ml), 并与上述所得磁珠混合, 并充分混匀。
2. 制备新鲜的含有 2% 的 EDC 溶液的 Coupling buffer。注意: 准备后 15 分钟内使用。
3. 向蛋白质溶液中加入 100 μ l 上述 2% EDC 溶液并充分混合。
4. 室温条件下, 在保持良好混匀情况下过夜孵育。

C. 清除未结合蛋白

1. 反应完成后, 将管放在磁力分离器上 1-3 分钟。当磁珠完全沉淀时, 去除上清液。
2. 清洗磁珠使用 5 ml 的 Wash/storage buffer, 重复三次。
3. 在室温下用 1ml 的 Blocking buffer, 在保持良好混匀情况下将磁珠孵育 1-2 小时。
4. 使用 5ml 的 Wash/storage buffer 清洗磁珠三次
5. 用所需体积的 Wash/storage buffer 悬浮磁珠, 并在 4 $^{\circ}$ C 下储存。

II. 两步偶联法实验过程:

提示: 两步方案: 该方案适用于含有羧基的配体, 或者只有有限数量的配体可用

A. 磁珠准备

1. 将 30mg 磁珠与 1ml 的 Coupling buffer 在离心管中混合, 并通过涡旋或移液器吹吸方式充分混合。
2. 将试管插入磁力分离器中 1-3 分钟, 直到上清液变的澄清。将试管留在磁力分离器中的同时, 用移液器吸出并丢弃上清液。
3. 制备新鲜的含有 5% EDC 和 5% NHS 的 Coupling buffer。注意: 准备后 15 分钟内使用。
4. 向含有磁珠的试管中加入 500 μ l 上述含有 5%EDC 和 5% NHS 的 Coupling buffer 并充分混合。
5. 在室温下, 保持磁珠良好混匀情况下, 将磁珠孵育 30 分钟。

6. 孵育完成后，将试管插入磁力分离器中 1-3 分钟，直到上清液变的澄清。将试管留在磁力分离器中的同时，用移液器吸出并丢弃上清液。
7. 清洗磁珠使用 5 ml 冰浴过的 Coupling buffer，重复三次。
8. 磁珠准备用来偶联。

B. 结合蛋白

1. 用 Coupling buffer 制备 1 ml 蛋白质溶液（0.5-1mg/ml），并与上述所得已清洗的磁珠混合。
2. 在室温下孵育过夜，过程中确保充分混合。

C. 清除未结合蛋白

1. 反应完成后，将试管放在磁力分离器上 1-3 分钟。当磁珠完全吸附到磁力分离器上时，去除上清液。
2. 使用 5 ml 的 Wash/storage buffer 清洗磁珠，重复三次。
3. 在室温下用 1ml 的 Blocking buffer，在保持良好混匀情况下将磁珠孵育 1-2 小时。
4. 使用 5ml 的 Wash/storage buffer 清洗磁珠三次
5. 用所需体积的 Wash/storage buffer 悬浮磁珠，并在 4°C 下储存。

III. 通用式亲和层析方法

提示：

该方案是一个通用的亲和纯化方法。因为没有两种蛋白质是完全相同的，所以不可能为所有的蛋白质纯化设计一个通用的协议。为了获得最佳结果，每个用户必须确定纯化单个目标蛋白的最佳工作条件。

建议根据粗样品中目标蛋白质的含量，进行滴定，以优化每个单独实验中使用的磁珠数量。使用过的磁珠将导致较高的背景，而使用过少的磁珠将导致较低的产量。每毫克磁珠通常可与 1-20 μ g 靶蛋白结合。

1. 将适量的磁珠转移到试管中。将试管放在磁力分离器上 1-3 分钟。当磁珠完全吸附时，去除上清液。
2. 取下试管，加入 5 倍磁珠溶液体积的 PBS 缓冲液，通过震荡重新悬浮磁珠，涡旋 30 秒。将试管至于室温环境孵育 1-3 分钟，再将管放在磁力分离器上 1-3 分钟。当磁珠完全吸附时，去除上清液。
3. 重复步骤 2 两次。
4. 向含有目标蛋白质的粗样品中添加洗涤过的磁珠，并在室温或所需温度下孵育 1-2 小时（温度越低，孵育时间越长）。
5. 用 5 倍磁珠体积的 PBS 缓冲液或 1M NaCl 彻底清洗磁珠，直到 280nm 处洗涤液的吸光度接近背景水平（OD₂₈₀<0.05）。
6. 通过适当的方法洗脱目标蛋白，如低 pH（2-4）、高 pH（10-12）、高盐、高温、亲和洗脱或加入 SDS-PAGE 上样缓冲液煮沸。

BM20220810