

## 链霉亲和素 Streptavidin 说明书

**货号:** S21290

**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 $\mu\text{l}$ /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 $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{L}$  羧基磁珠到 1 mL 离心管中,磁性分离去除上清液,用 200  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  EDC 溶液(10 mg/mL,以上述 MEST 溶液作分散剂)和 100  $\mu\text{L}$  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 $^{\circ}\text{C}$  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  $\mu\text{g}$ ~200  $\mu\text{g}$  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  $\text{pH}\approx 8.0$ ，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  $\mu\text{L}$  PBST 溶液（ $\text{pH}$  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  $\mu\text{L}$  PBS 溶液（ $\text{pH}$  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（ $\text{NaN}_3$ ）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。