

Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶)

产品编号	产品名称	包装
P2159-1ml	Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶)	1ml
P2159-5ml	Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶)	5ml
P2159-20ml	Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶)	20ml

产品简介:

- 碧云天的Streptavidin Agarose(链霉亲和素琼脂糖凝胶), 也称Streptavidin琼脂糖凝胶或SA琼脂糖凝胶, 由高质量的链霉亲和素(Streptavidin, SA)与高度交联的6%琼脂糖共价偶联而成, 能够快速、高效、灵敏、特异地与生物素(Biotin)标记的抗体、核酸、蛋白、多肽、凝集素等分子结合。主要用于分离纯化生物素标记的核酸、抗体、蛋白或相关复合物等, 用于免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)、细胞分选、DNA-蛋白相互作用研究等。
- Streptavidin的分子量为55kD, 可以高度特异地和生物素(Biotin)结合。Streptavidin和生物素的亲和常数为 $K_d = 10^{-15}M$ 。Streptavidin是一个4聚体蛋白, 可以同时结合4个生物素分子[1]。Streptavidin的中文名为链霉亲和素, 从*Streptomyces avidinii*中纯化获得, 和鸡蛋清来源的Avidin (亲和素)在空间结构以及与生物素的亲和力方面具有高度的相似性。和Avidin不同的是, Streptavidin是一种非糖基化蛋白, 并且基本不带电荷。Avidin的 $pI \approx 10.5$, 在中性pH条件下呈碱性。由于Streptavidin和Avidin相比在中性条件下不带电荷, 因此Streptavidin的非特异性结合比Avidin低很多, 这样检测时的非特异性背景就低很多。因此目前在生物素检测时通常使用Streptavidin替代Avidin。
- 链霉亲和素琼脂糖凝胶在生物医药领域内应用非常广泛, 可以特异地结合生物素标记的抗原或者抗体, 作为免疫沉淀、细胞分选、ELISA等反应的载体; 结合生物素标记的DNA或RNA片段, 从细胞或组织提取物中分离特定的核酸-蛋白质复合物, 用于蛋白质与核酸相互作用研究; 结合生物素标记核酸探针, 用于DNA、RNA杂交实验或mRNA的分离和纯化等; 还可用于纯化单链生物素标记DNA寡核苷酸、分离生物素标记PCR产物等。本产品的实验流程参考图1。

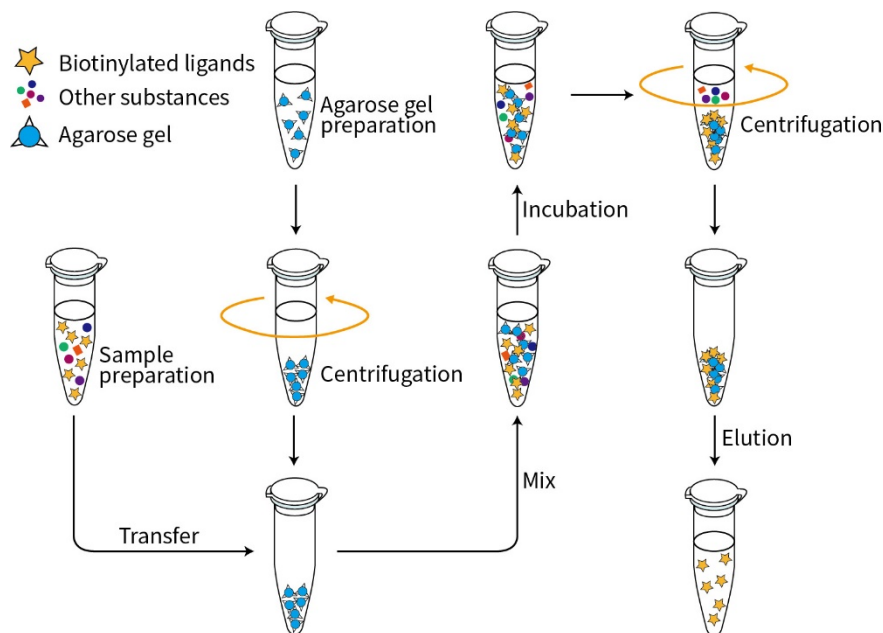


图1. 碧云天Streptavidin Agarose(链霉亲和素琼脂糖凝胶) (P2159)的实验流程图。

- **本产品结合容量高。**与同类的很多产品相比, 本产品具有非常高的结合容量, 对复杂样品中生物素标记的分子可以快速进行分离纯化。本产品中Streptavidin Agarose为50%的凝胶悬浊液, 每毫升Streptavidin Agarose沉淀中偶联有 $\geq 2mg$ 高质量链霉亲和素蛋白, 可结合约1-3mg生物素标记BSA, 可高效地进行免疫沉淀等实验。本产品用于生物素标记BSA (Biotin-BSA)的结合效果参考图2。

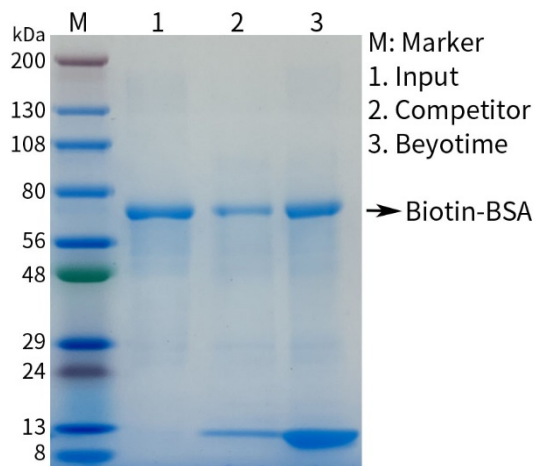


图2. 碧云天Streptavidin Agarose(链霉亲和素琼脂糖凝胶) (P2159)用于生物素标记BSA的结合效果图。泳道1为Input, 即为生物素标记BSA (Biotin-BSA); 泳道2为同类产品(Competitor)结合的Biotin-BSA; 泳道3为本产品结合Biotin-BSA。结合后使用1X SDS-PAGE Loading Buffer进行洗脱并进行SDS-PAGE。图中可见本产品能沉淀比同类产品(Competitor)更多的Biotin-BSA, 结合量接近总量(Input), 并且本产品中偶联了更多的Streptavidin。图中约13kD处的条带为Streptavidin的单体。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本产品特异性强。** 本产品可特异性地结合生物素化的抗体、核酸、蛋白、多肽、凝集素等配体分子, 获得的产物纯度高, 可进一步用于Western、ELISA、Northern、qPCR、质谱分析等一系列后续的分析测试。
- 本产品的主要指标如下表:

Characteristics	Description
Product content	50% settled gel in specific protective buffer
Agarose structure	6% cross-linked agarose
Average particle size	45-165 μ m
Coupled protein	Streptavidin
M.W. of protein	~55kDa (Streptavidin)
Protein concentration	\geq 2mg streptavidin per ml settled gel
Binding capacity	Per ml settled gel: \geq 1mg biotinylated antibody or dsDNA, \geq 200nmol free biotin, \geq 8nmol biotinylated oligonucleotides or peptides
Specificity	Biotinylated ligands
Elution method	Elution with acid or SDS-PAGE loading buffer for single-use applications
Application	Purification of biotin-labeled proteins and nucleic acids, IP, Co-IP, DNA-protein pull-downs

- 本产品为50%凝胶悬液, 包装体积为总体积, 每毫升本产品中共含有0.5ml凝胶沉淀物。如果每个用品使用50 μ l琼脂糖凝胶悬液, 每毫升本产品可以用于20个样品反应。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P2159-1ml	Streptavidin Agarose	1ml
P2159-5ml	Streptavidin Agarose	5ml
P2159-20ml	Streptavidin Agarose	20ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存, 一年有效。4 $^{\circ}$ C保存, 至少一个月有效。

注意事项:

- 本产品使用前要适当充分重悬, 即颠倒若干次使琼脂糖凝胶混合均匀, 混匀操作须轻柔, 不宜剧烈涡旋震荡等, 避免蛋白变性、琼脂糖凝胶破碎等。
- 本产品含有微量的防腐剂, 使用前宜先用TBS等适当溶液洗涤凝胶3次, 以充分消除防腐剂可能产生的干扰。
- 在免疫沉淀或纯化时, 建议设计阳性和阴性对照组。
- 待结合分子的类型、大小及生物素标记方式和程度等都会影响结合效率, 建议通过稀释法来确定每种具体应用的琼脂糖凝胶用量, 同时可以考虑加大琼脂糖凝胶用量至待结合分子2-3倍摩尔数量以确保结合充分。
- 游离生物素会降低本琼脂糖凝胶的结合能力, 因此在生物素标记蛋白或核酸后, 需要用脱盐柱等方法去除多余的游离生物素。

- 蛋白样品收集后宜尽快完成纯化工作，并应始终放置在4°C或冰浴，以减缓蛋白降解或变性。为有效抑制蛋白降解，可以在蛋白样品中添加适量的蛋白酶抑制剂混合物，例如碧云天的P1005/P1006蛋白酶抑制剂混合物(通用型)、P1048/P1049蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型，质谱兼容，50X)、P1010/P1011蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用，100X)、P1050/P1051蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用，50X)等。
- 如果离心不能完全除去蛋白样品中的不溶物，可以将样品溶液用0.45μm的滤膜过滤。酸性溶液洗脱或使用SDS-PAGE洗脱后的琼脂糖不可重复使用。为了尽量减少链霉亲和素的脱落，无论是手动操作还是自动操作，低pH洗脱步骤都不要超过10分钟。
- 高浓度的DTT、巯基乙醇、盐酸胍等对本产品与配体的结合可能有一定影响，但Western及IP细胞裂解液(P0013)、RIPA裂解液(P0013B/C/D)或NP-40裂解液(P0013F)等都完全适用。碧云天生产的不同裂解液的主要特点和差异，以及如何选择裂解液可参考我们的相关网页：<http://www.beyotime.com/support/lysis-buffer.htm>。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 缓冲液的准备。参考下表，根据具体的实验用途配制相应的缓冲液。

Buffer	Components	Application
TBS	Tris Buffered Saline (e.g. ST661/ST665)	Prewash
Binding & Washing Buffer I (2X)	10mM Tris-HCl (pH7.5), 1mM EDTA, 2M NaCl, 0.01%-0.1% Tween-20	for nucleic acid
Washing Buffer II (1X)	PBS (pH7.4), 0.05% Tween-20, with or without 0.01%-0.1% BSA	for antibody/protein
DNA/RNA Elution Buffer	95% formamide, 10mM EDTA, pH8.2	for nucleic acid
Acid Elution Buffer	0.1M Glycine (pH2.8) or 8M Guanidine·HCl (pH1.5)	for antibody/protein
Neutralization solution	1M Tris-HCl (pH8.5-9.5)	for antibody/protein
SDS-PAGE Loading Buffer	SDS-PAGE Loading Buffer (e.g. P0015)	for antibody/protein

注1：可根据所结合分子的类型或实验需要，适当调整缓冲液的盐浓度及pH。

注2：Binding & Washing Buffer I (2X)用于洗涤时须用等体积超纯水稀释至1X。

2. 链霉亲和素琼脂糖凝胶准备。

- 取琼脂糖凝胶并去除上清。**轻轻重悬链霉亲和素琼脂糖凝胶，尽量形成均匀的凝胶悬浊液，取20-100μl置于1.5ml离心管(FTUB015)中待用。注：使用大孔径吸头(如用剪刀剪去部分吸头)吸取凝胶悬浊液会比较方便。
- 洗涤琼脂糖凝胶。**加入1X TBS (ST661/ST665)至最终体积为约0.5ml，轻轻重悬链霉亲和素琼脂糖凝胶。600×g在4°C离心5分钟，小心去除上清，不要吸到凝胶，完成一次洗涤步骤。然后再按照前述洗涤步骤，洗涤2次。最终去除上清，并根据后续的实验目的，用适量的适当溶液(参考步骤3a或4a)重悬链霉亲和素琼脂糖凝胶。
- 本琼脂糖凝胶及溶液并非RNase-free处理，如果用于RNA相关的应用，在上述洗涤后，用0.5ml DEPC处理过的0.05M NaCl洗涤琼脂糖凝胶2次，每次2分钟；然后再用0.5ml DEPC处理过的0.1M NaCl洗涤一次。根据后续的实验目的，按照初始体积的量，用适当溶液(参考步骤3a或4a)重悬链霉亲和素琼脂糖凝胶。

注1：通常，每个样品的琼脂糖凝胶用量约为20-100μl。具体可根据生物素标记分子的多少，参考产品主要指标表中琼脂糖凝胶的‘Binding capacity’，计算生物素标记分子的加入量。根据不同的实验目的，例如可以考虑生物素标记分子的加入量为琼脂糖凝胶载量的1-2倍，使琼脂糖凝胶饱和，即把琼脂糖凝胶充分利用，此时通常实验目的是分离纯化；再例如加入琼脂糖凝胶的载量是待分离纯化的生物素标记分子的2-3倍，以确保生物素标记分子能被充分分离纯化，此时通常实验目的是为了对样品中的生物素标记分子进行定量分析。

注2：多个样品时，可以取总琼脂糖凝胶量合并洗涤处理后再平分到各个样品管中，洗涤液用量须相应增加。

注3：也可参考相关方法进行填柱并使用重力柱法或FPLC法进行纯化。

3. 生物素标记核酸的结合和洗脱。

- 琼脂糖凝胶重悬。**按步骤2b或2c，用2倍原始琼脂糖凝胶体积的Binding & Washing Buffer I (2X)重悬琼脂糖凝胶。
- 核酸吸附。**加入等体积的用超纯水配制的生物素标记核酸样品(加入样品后体积为原始琼脂糖凝胶体积的4倍)，充分振荡混悬，置于旋转混合仪上，室温孵育10-30分钟或4°C孵育2小时。注：可通过测定反应前后核酸的浓度，计算结合到琼脂糖凝胶上的核酸量。
- 洗涤。**取1ml Binding & Washing Buffer I (1X)加入琼脂糖凝胶中，轻轻重悬琼脂糖凝胶，600×g在4°C离心5分钟，去除上清，不要吸到凝胶。再重复洗涤1-2次。
- 洗脱。**加入100μl或适量的DNA/RNA Elution Buffer，65°C孵育5分钟或90°C孵育2分钟。

4. 生物素标记抗体或蛋白的结合和洗脱。

- 抗体或蛋白吸附。**加入适量用Washing Buffer II (1X)稀释的生物素标记抗体、蛋白、抗原抗体复合物或蛋白复合物，轻轻重悬琼脂糖凝胶，置于旋转混合仪上，室温孵育30-60分钟或4°C孵育4-16小时。
- 洗涤。**取1ml的Washing Buffer II (1X)加入琼脂糖凝胶，轻轻重悬琼脂糖凝胶，600×g在4°C离心5分钟，去除上清，不要吸到凝胶。重复洗涤3-4次。

c. **洗脱。**根据目的核酸或蛋白的特点及后续实验要求，可以选择如下方法之一或其它合适方法进行洗脱。

(a) **酸性洗脱缓冲液洗脱。**每个样品加入100μl或适量Acid Elution Buffer (0.1M Glycine (pH2.8))，混匀后置于旋转混合仪上，室温孵育5分钟，置于离心机中600×g在4°C离心5分钟，将上清转移到新的离心管中，立即加入10μl中和液(1M Tris-HCl (pH8.5))，适当混匀。洗脱液置于4°C待用，或者-20°C长期保存。

注1：如果选择酸性洗脱缓冲液进行洗脱，就有可能发生链霉亲和素脱落，需注意孵育时间不要超过10分钟。

注2：酸性洗脱缓冲液能破坏绝大部分的抗体与抗原的相互作用。但为了确保更好的洗脱效果，可预先用300μl 0.1% Tween-20的水溶液洗涤琼脂糖凝胶1次。如果对洗脱效率的要求比较高，可用酸性洗脱液(8M Guanidine·HCl (pH1.5))进行洗脱，相应的中和液的pH值或量也要进行一定的调整，例如100μl酸性洗脱液(8M Guanidine·HCl (pH1.5))和15μl中和液(1M Tris-HCl, pH9.5)。

(b) **SDS-PAGE Loading Buffer或0.1% SDS洗脱。**每个样品加入100μl或适量的1X SDS-PAGE Loading Buffer或0.1% SDS，95°C加热3分钟。置于离心机中600×g在4°C离心5分钟，取上清用于SDS-PAGE电泳或Western检测等。

注：如果选择SDS-PAGE Loading Buffer或0.1% SDS进行洗脱，那么洗脱液将包含链霉亲和素单体和二聚体、生物素标记抗体或蛋白。

参考文献：

1. Lim KH, Huang H, Pralle A, Park S. Biotechnol Bioeng. 2013. 110(1):57-67.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2015-2ml	Protein A Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	2ml
P2015-10ml	Protein A Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	10ml
P2015-50ml	Protein A Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	50ml
P2015-200ml	Protein A Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	200ml
P2017-2ml	Protein G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	2ml
P2017-10ml	Protein G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	10ml
P2017-50ml	Protein G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	50ml
P2017-200ml	Protein G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	200ml
P2019-2ml	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	2ml
P2019-10ml	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	10ml
P2019-50ml	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	50ml
P2019-200ml	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 抗体纯化用)	200ml
P2159-1ml	Streptavidin Agarose(链霉亲和素琼脂糖凝胶)	1ml
P2159-5ml	Streptavidin Agarose(链霉亲和素琼脂糖凝胶)	5ml
P2159-20ml	Streptavidin Agarose(链霉亲和素琼脂糖凝胶)	20ml
P2151-200μl	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	200μl
P2151-1ml	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	1ml
P2151-5ml	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	5ml

Version 2023.05.22