

BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠)

产品编号	产品名称	包装
P2161-200μl	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠)	200μl
P2161-1ml	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠)	1ml
P2161-5ml	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠)	5ml

产品简介:

- 碧云天的BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠), 也称Biotin磁珠, 由高质量的生物素(Biotin)与超顺磁性纳米级磁珠共价偶联而成, 能够快速、高效、灵敏、特异地与链霉亲和素(Streptavidin)或亲和素(Avidin)以及偶联了链霉亲和素或亲和素的抗体、核酸、蛋白、多肽、凝集素等分子结合。主要用于分离纯化偶联了亲和素或链霉亲和素的核酸、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。
- 生物素(Biotin), 即维生素B7(Vitamin B7), 也称D-Biotin、维生素H (Vitamin H)、Biso II、I、辅酶R (Coenzyme R), 是B族维生素之一[1]。生物素被归类为杂环化合物, 具有含硫环稠合脲基(Sulfur-containing ring fused ureido)和四氢噻吩基团(Tetrahydrothiophene group) [1, 2]。含有-N-CO-N-基团的脲基环(Ureido ring)在羧化反应中充当二氧化碳载体。生物素参与碳水化合物的消化、脂肪酸的合成和糖异生(Gluconeogenesis)等代谢过程。核染色质中组蛋白的生物素化在染色质稳定性和基因表达中发挥重要作用。生物素还可作为羧化酶(如丙酮酸羧化酶)的辅助因子, 催化丙酮酸和二氧化碳形成草酰乙酸[2]。
- 生物素是一种小分子, 它的存在不会影响大分子的生物学功能。生物素广泛应用于生物素-(链霉)亲和素系统(biotin-(strept)avidin system), 而且生物素是羧化酶的重要辅助因子, 存在于各种代谢途径中[2]。生物素与亲和素(Avidin)或链霉亲和素(Streptavidin)的结合有助于将目标分子(抗体、核苷酸、蛋白A等)与标记系统(酶、荧光、化学发光探针)连接起来。这种复合物用于许多检测系统, 例如免疫沉淀、免疫组织化学/流式细胞分析、Southern和Northern等。同时, 这种方法也适用于各种目标分子的纯化和表征。此外, 生物素还可用于培养少突胶质细胞, 作为芽孢杆菌属物种生长的维生素补充剂, 在免疫组织学过程中阻断内源性生物素[3]。
- 生物素磁珠在生物医药领域内应用非常广泛, 可以特异地结合(链霉)亲和素偶联的抗原或者抗体, 作为免疫沉淀、细胞分选、ELISA等反应的载体; 结合(链霉)亲和素偶联的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(链霉)亲和素偶联的核酸探针, 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(链霉)亲和素偶联的DNA寡核苷酸、分离(链霉)亲和素偶联的PCR产物等。本产品的实验流程参考图1。

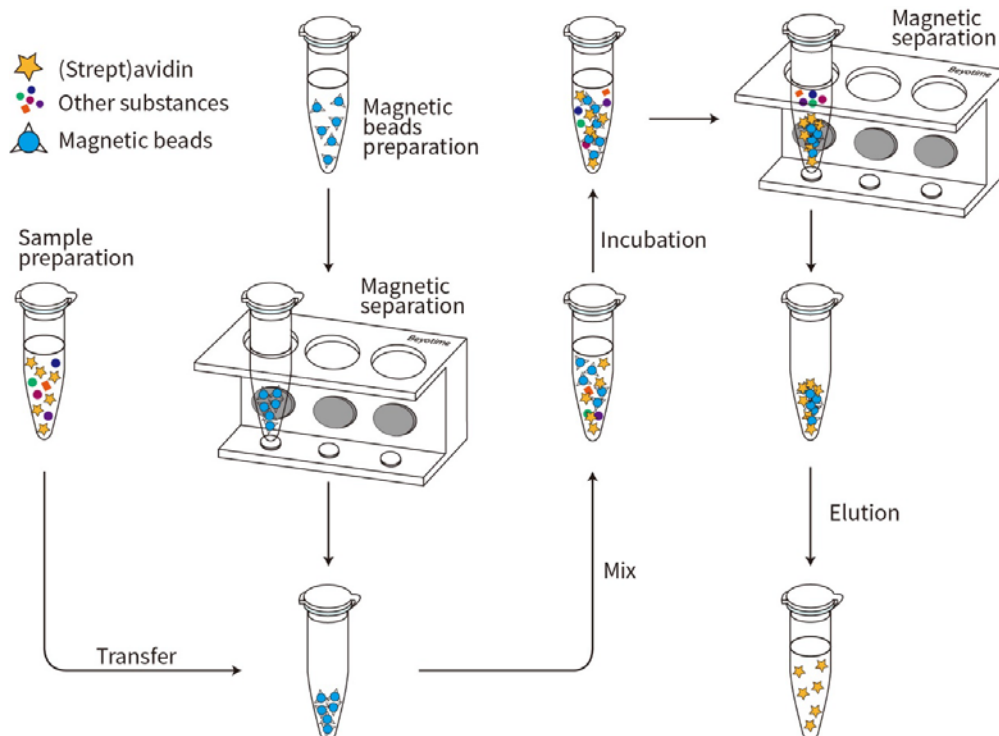


图1. 碧云天BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠) (P2161)的实验流程图。

- **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(链霉)亲和素偶联的分子可以快速进行分离纯化，而且磁珠粒径小，不易产生非特异吸附。本产品每毫升磁珠悬浊液含约10mg磁珠，含有 ≥ 4 nmol高质量生物素，每毫克磁珠可结合 $\geq 30\mu\text{g}$ (链霉)亲和素，最高可达 $60\mu\text{g}$ (链霉)亲和素，可高效地进行免疫沉淀等实验。
- **本产品特异性强。**本产品可特异性地结合(链霉)亲和素偶联的抗体、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。
- **本产品结合(链霉)亲和素偶联分子速度快，吸附时间短，可快速高效结合配体。**本产品所使用的纳米级磁珠(~200nm)具有超大比表面积，有效缩短了(链霉)亲和素与生物素结合所需的时间。缩短操作时间可以避免在长时间操作过程中配体分子的降解，有效保持配体分子的活性及完整性。
- **本产品使用便捷。**本产品储存在特殊保护液中，不含甘油，磁性分离，无需离心。本产品不仅适用于少量样本的检测，也适用于高通量筛选(high-throughput screening)的自动化操作系统，不同操作方法之间一致性高。
- 本产品的主要指标如下表：

Characteristics	Description
Product content	10mg/ml magnetic beads in specific protective buffer
Beads size	~200nm
Magnetization	Superparamagnetic
Coupled Ligand	Biotin
M.W. of Ligand	244Da (Biotin)
Ligand concentration	≥ 4 nmol Biotin per ml beads
Binding capacity	per mg beads: $\geq 30\mu\text{g}$ Avidin
Specificity	(Strept)avidin coupled ligands
Elution method	Elution with acid or SDS - PAGE loading buffer for single-use applications
Application	Purification of (strept)avidin-coupled proteins and nucleic acids, IP, Co-IP, DNA-protein pulldowns

- 如果每个用品使用 $20\mu\text{l}$ 磁珠，每毫升本产品可以用于50个样品。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P2161-200 μl	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads	200 μl
P2161-1ml	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads	1ml
P2161-5ml	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

4°C保存，一年有效。长期不使用，建议-20°C保存，可以保存更长时间。

注意事项：

- 本产品需维持pH为6-8，避免高速离心、干燥；请勿长时间将磁珠置于磁场中，否则可能会引起磁珠聚团。
- 本产品使用前要适当充分悬悬，即颠倒若干次使磁珠混合均匀，混匀操作须轻柔，不宜剧烈涡旋震荡等，避免蛋白变性等。
- 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(链霉)亲和素偶联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磁珠用量，同时可以考虑加大磁珠用量至待结合分子2-3倍摩尔数量以确保结合充分。
- 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, 100X)、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。
- 如果使用真空泵等仪器吸取上清液，须注意真空泵的吸液强度，以免吸力过大而吸取到聚集的磁珠。
- 酸性溶液洗脱时磁珠可能会发生聚集，属于正常现象，不影响磁珠的正常使用。0.1%的非离子型去垢剂(如Triton X-100、Tween-20或NP-40)可有效防止磁珠聚集，并且不会影响磁珠的抗体结合效率。
- 酸性溶液洗脱或使用SDS-PAGE洗脱后的磁珠不可重复使用。为了尽量减少生物素的脱落，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 (pH2.0)	for antibody/protein
Neutralization Buffer	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. 生物素磁珠准备。

- 取磁珠并去除上清。**用移液器轻轻吹打以充分重悬生物素磁珠, 取20-100 μ l置于1.5ml离心管(FTUB015)中待用。使用前置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离1分钟, 去除上清。
- 洗涤磁珠。**加入1X TBS (ST661/ST665)至最终体积为约0.5ml, 用移液器轻轻吹打重悬生物素磁珠。置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离10秒, 去除上清, 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)重悬生物素磁珠。
- 本磁珠及溶液并非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洗涤磁珠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)重悬生物素磁珠。

注1: 通常, 每个样品的磁珠用量约为20-100 μ l。具体可根据(链霉)亲和素偶联分子的多少, 参考产品主要指标表中磁珠的“Binding capacity”, 计算(链霉)亲和素偶联分子的加入量。根据不同的实验目的, 可以考虑(链霉)亲和素偶联分子的加入量为磁珠载量的1-2倍, 使磁珠饱和, 即把磁珠充分利用, 此时通常实验目的是分离纯化; 或者加入磁珠的载量是待分离纯化的(链霉)亲和素偶联分子的2-3倍, 以确保(链霉)亲和素偶联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(链霉)亲和素偶联分子进行定量分析。

注2: 多个样品时, 可以取总磁珠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: 须避免待用时间过长, 导致磁珠干燥。

3. (链霉)亲和素偶联核酸的结合和洗脱。

- 磁珠重悬。**接步骤2b或2c, 用2倍原始磁珠体积的Binding & Washing Buffer I (2X)重悬磁珠。
- 核酸吸附。**加入等体积的用超纯水配制的(链霉)亲和素偶联核酸样品(加入样品后体积为原始磁珠体积的4倍), 充分振荡混悬, 置于侧摆摇床或旋转混合仪上, 室温孵育10-30分钟或4 $^{\circ}$ C孵育2小时, 推荐使用BeyoShaker™数字式翘板摇床(E6673)。注: 可通过测定反应前后核酸的浓度, 计算结合到磁珠上的核酸量。
- 磁性分离。**将离心管置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离1分钟, 去除上清。
- 洗涤。**取1ml Binding & Washing Buffer I (1X)加入分离得到的磁珠中, 充分振荡重悬磁珠。将离心管置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离1分钟, 去除上清。再重复洗涤1-2次。
- 洗脱。**加入100 μ l或适量的DNA/RNA Elution Buffer, 65 $^{\circ}$ C孵育5分钟或90 $^{\circ}$ C孵育2分钟。

4. (链霉)亲和素偶联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(链霉)亲和素偶联抗体、蛋白、抗原抗体复合物或蛋白复合物, 充分振荡重悬磁珠, 置于侧摆摇床或旋转混合仪上, 室温孵育30-60分钟或4 $^{\circ}$ C孵育4-16小时。
- 磁性分离。**将离心管置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离1分钟, 去除上清。
- 洗涤。**取1ml的Washing Buffer II (1X)加入分离得到的磁珠中, 充分振荡重悬磁珠。将离心管置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离1分钟, 去除上清。重复洗涤3-4次。
- 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100 μ l或适量Acid Elution Buffer, 混匀后置于侧摆摇床或旋转混合仪上, 室温孵育5分钟。然后置于磁力架上分离1分钟, 将上清转移到新的离心管中, 然后加入15 μ l Neutralization Buffer进行中和。洗脱液置于4 $^{\circ}$ C待用, 或者-20 $^{\circ}$ C长期保存。

注1: 如果选择酸性洗脱缓冲液进行洗脱, 就有可能发生生物素脱落, 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300 μ l 0.1% Tween-20的水溶液洗涤磁珠1次。

(b) **SDS-PAGE Loading Buffer或0.1% SDS洗脱。**每个样品加入100 μ l或适量的1X SDS-PAGE Loading Buffer或0.1% SDS, 95 $^{\circ}$ C加热3分钟。置于磁力架上分离1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, 那么洗脱液将包含生物素、(链霉)亲和素偶联抗体或蛋白。

参考文献:

1. Penberthy WT, Sadri M, Zempleni J. Present Knowledge in Nutrition, Eleventh Edition. 2020. pp. 289-304.
2. Waldrop GL, Holden HM, St Maurice M. Protein Sci. 2012. 21(11):1597-619.
3. Laitinen OH, Hytönen VP, Nordlund HR, Kulomaa MS. Cell Mol Life Sci. 2006. 63(24):2992-3017.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
FMS012	BeyoMag™磁分离架(12孔)	1个/袋
FMS024	BeyoMag™磁分离架(24孔)	1个/袋
FMS096	BeyoMag™磁分离架(96孔)	1个/盒
FMS004	BeyoMag™磁分离架(4孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS008	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS016	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS154	BeyoMag™磁分离架(4孔, 15ml, 蓝)	1个/盒
FMS504	BeyoMag™磁分离架(4孔, 50ml, 蓝)	1个/盒
FMS081	BeyoMag™磁分离架(96孔, PCR板, 蓝)	1个/盒
FMS085	BeyoMag™磁分离架(96孔, 平底板, 蓝)	1个/盒
FMS009	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS017	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS025	BeyoMag™磁分离架(24孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS082	BeyoMag™磁分离架(96孔, PCR板, 铝合金)	1个/盒
FMS086	BeyoMag™磁分离架(96孔, 细胞培养板, 铝合金)	1个/盒
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
P2161-200µl	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠)	200µl
P2161-1ml	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠)	1ml
P2161-5ml	BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠)	5ml

Version 2023.08.18