

# Carboxyl-Activated MagPoly Beads

## 目录

1. 产品介绍.....	1
2. 产品使用流程.....	1
3. 纯化流程.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	2

## 1. 产品介绍

**Carboxyl-Activated Magpoly Beads** 是一种高饱和和磁化强度的磁性微球，其表面修饰羧基功能团。**Carboxyl-Activated Magpoly Beads** 表面的羧基功能团能够在特殊化学试剂（如 EDC）的作用下将多肽、蛋白、抗体、寡聚核苷酸等生物配体共价偶联到微球表面，从而可以快速地为目标物从样品中分类和富集，是医学与分子生物学研究中重要的载体工具。

表 1. Carboxyl-Activated Magpoly Beads 产品性能

性能	指标
基质	聚合物磁性微球
偶联量	>10 $\mu\text{g}$ IgG/mg 介质
粒径	1 $\mu\text{m}$
磁珠浓度	10 mg/ml
储存缓冲液	DI water, 0.05%kv300 (v/v)
储存温度	2-8 $^{\circ}\text{C}$

## 2. 产品使用流程

### 2.1 缓冲液准备

- 活化溶液: 50 mM MES, pH 5.0
- EDC 溶液: 10 mg/ml, 50 mM MES, pH 5.0 现配现用
- 封闭液: 50 mM Tris, pH7.4 或 50 mM 乙醇胺, pH 8.0
- 清洗液: 0.1% Tween-20 或 Triton X-100 的 1 $\times$ PBS 溶液, pH 7.4
- 保护液: DI water, 0.05%kv300 (v/v)

### 2.2 磁珠活化

- 1) 取 200  $\mu\text{l}$  **Carboxyl-Activated Magpoly Beads** 于离心管中，在样品混合仪上振荡，充分混匀。
- 2) 将离心管置于磁分离器上约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。注：不要吸掉磁珠，下同。
- 3) 将离心管磁分离器上取下来，加入与悬浮液等体积的活化溶液，使用枪头反复吹打 5-10 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液，重复洗涤 1 次。
- 4) 加入 200  $\mu\text{l}$  (10 mg/ml) EDC 溶液，混合均匀。
- 5) 室温孵育 30 min。确保磁珠充分混匀，否则影响活化效率。
- 6) 将离心管置于磁分离器上约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。用预冷的去离子水和活化溶液清洗 2 次，尽可能的快速，避免活化基团的水解。

### 2.3 配体偶联

- 1) 清洗好的活化磁珠中加入 200  $\mu\text{l}$  含 1-5 mg/ml 抗体蛋白的活化溶液，充分混匀，室温孵育过夜，确保磁珠充分混匀。
- 2) 将离心管置于磁分离器上约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。加入 500  $\mu\text{l}$  封闭液，室温孵育 30 min。
- 3) 可以选择清洗液清洗 2 次去除非特异性吸附，1 $\times$ PBS 溶液清洗 2 次，待用。如果暂时不用需要长期保存，可将偶联好配体的磁珠保存在保护液中，2-8 $^{\circ}\text{C}$  保存。





### 3. 纯化流程

下面以磁珠偶联抗体后，纯化抗原为例，介绍纯化步骤。

#### 3.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。

**平衡/洗杂液:** 0.15 M NaCl, 20 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.0

**洗脱液:** 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

**中和液:** 1 M Tris-HCl, pH 8.5

#### 3.2 磁珠预处理

将偶联好的磁珠混合均匀，取计算量（根据上样量和磁珠载量计算）的磁珠悬浮液（后文均以 100  $\mu\text{l}$  为例），转移至离心管中，放置在磁分离器上，静置大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。再将离心管从磁分离器上取下来，加入与所取磁珠悬浮液等体积（100  $\mu\text{l}$ ）的平衡液，使用枪头反复吹打 5 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液，重复洗涤 2 次。

#### 3.3 样品吸附

在步骤 3.2 预处理的磁珠中加入样品溶液，漩涡振荡均匀，在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管，促使样品和磁珠充分接触并吸附，混合 30 min 以上（具体时间根据结合效果调整），置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。

#### 3.4 洗杂

向离心管中加入初始磁珠悬浮液 5 倍体积（500  $\mu\text{l}$ ）的洗杂液，振荡悬浮，混合 1-2 min，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。该操作重复两次。

#### 3.5 洗脱

在上述离心管中加入 3-5 倍悬浮液体积（300-500  $\mu\text{l}$ ）的洗脱液，用移液器吹打 5 次，然后在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管，5-10 min 后，置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸取上清液，收集洗脱组分，即为目标蛋白。

#### 3.6 洗脱组分中和

向洗脱组分中加入洗脱体积 1/10 的中和液，调节 pH 值至 7.0-8.0。

#### 3.7 磁珠保存

使用后的磁珠用 1 ml 洗脱液重悬磁珠，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。该操作重复两次。再加入 1 ml 平衡液，悬浮磁珠，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。加入步骤 2.1 中的保护液至磁珠浓度为 10 mg/ml，置于 2-8  $^{\circ}\text{C}$  保存。

### 4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Carboxyl-Activated Magpoly Beads	SM029001	1 ml
	SM029002	2 ml
	SM029010	10 ml

