

# 链亲和素磁珠 (MSP-SAV)

## 产品简述

- 活化 MSP-COOH-Z1 羧基偶联重组表达链亲和素得 MSP-SAV-Z1 亚型
- 活化 MSP-COOH-F1 羧基偶联重组表达链亲和素得 MSP-SAV-F1 亚型
- 磁珠表面未用牛血清白蛋白进行封闭, 对疏水小分子的非特异吸附很低
- 对水溶性蛋白(大肠杆菌碱性磷酸酶、非生物素化蛋白)非特异吸附可忽略
- 用游离生物素饱和表面链亲和素后, 对生物素化蛋白非特异吸附也可忽略
- 与生物素化成分的可逆结合反应速度, 在现有市售链亲和素磁珠中居前列
- 磁响应速度快、悬浮稳定性好、结构稳定性好; 产品分离性能批间波动<6%

## 性能/规格

指标/特征	性能/性状
保存液	20 mM 磷酸钠, pH 7.4, 0.09%叠氮钠, 0.01% Tween 20, 0.1%抗氧化剂
产品形态	中性缓冲液, 混悬液
保质期	4~8 °C、不开封、避光保存; 保质期不短于 18 个月
大分子结合	~10.0 mg/g 磁珠 (生物素化牛小肠粘膜碱性磷酸酶为探针) 参考本公司专利“多指标联用比较固定化链亲和素分离性能的方法”
小分子结合	~0.40~0.90 μmol/g 磁珠 (随亚型而异; 小分子生物素衍生物为显色探针) 参考本公司专利“一类带对硝基酚显色团的氨基酸、制备方法及应用”
分离效价	全分离 80 ng 生物素化牛小肠碱性磷酸酶用量< 16.6 μg; 与进口竞品相当
非特异吸附	对常见水溶蛋白质的非特异吸附, 低于检测限 (测量方法见附录)
亚型选择	MSP-SAV-F1: 适合生物医药研究, 分离分析, pull-down MSP-SAV-Z1: 适合碱性磷酸酶和吡啶酯标记的发光免疫
缓冲液建议	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 发光免疫: 碱磷酶标记系统, 建议用 Tris-HCl 缓冲液; 吡啶酯标记系统, 建议用磷酸盐缓冲液</li> <li>● 核酸检测, 用 Tris-HCl 缓冲液, 避免样品中杂质抑制 PCR 反应</li> <li>● 基因捕获, 用 Tris-HCl 缓冲液, 避免样品中杂质抑制 PCR 反应</li> <li>● CTC 检测: 磷酸盐缓冲液或中性 Tris-HCl 缓冲液</li> </ul>
应用提示	用检测抗体不识别物质(如 BSA)封闭磁珠, 降低发光免疫本底提升信噪比

## 应用过程示例

### 一、试剂、器材

1. 缓冲液: 据需要选择或配制缓冲液, 保障试剂稳定性及应用性能; 备选缓冲液如下;
  - Buffer I (适合: 生物素化核酸用于捕获基因, 生物素化抗体用于碱磷酶标记系统): 10 mM Tris-HCl (pH 7.4), 1.0 mM EDTA, 1.0 M NaCl, 0.01%~0.1% Tween-20;
  - Buffer II (适合: 生物素化抗体/蛋白/DNA 用于吡啶酯标记发光免疫, 或细胞捕获): 20 mM 磷酸钠 (pH 7.4), 0.05% Tween-20; 如需要, 可添加 0.01%~0.1% BSA。

2. 基本器材：磁分离器、漩涡振荡器、移液器、吸头、(EP)试管、四维旋转混合仪、冰箱
3. 磁珠用量：据实验目的及待分离对象分子量，确定磁珠对生物素化成分的用量比例。

## 二、结合生物素化核酸

1. 取样：将链亲和素磁珠温和漩涡振荡 20 s 重悬均匀；取 50  $\mu\text{L}$  磁珠悬液到试管中，用磁分离架分离磁珠(试管置于磁分离架上 1.0 min 以上，再用移液器尽可能去上清液)；  
备注：需要据待结合生物素化分子的数量及大小，参考产品信息表中数据，确定磁珠用量。
2. 洗涤：1.0 mL Buffer I 与磁珠混匀；移液器温和吹打重悬磁珠；磁分离去上清液；  
备注：当步骤 1 取用磁珠体积大于 1.0 mL 时，加入与磁珠体积相同的 Buffer I。
3. 再洗涤：重复“步骤 2”，再洗涤磁珠两次；
4. 吸附：Buffer I 稀释生物素化核酸 0.50 mL 与洗涤后链亲和素磁珠混匀(磁珠浓度 $\sim$ 2 g/L)，温和充分重悬链亲和素磁珠；将混合物在四维旋转混合仪上，室温混合吸附 $\sim$ 30 min；
5. 去除未结合成分：磁力分离保留磁珠；如需要，测定上清液中未结合的核酸量；
6. 再洗涤：按“步骤 2”所述的方法，洗涤结合了核酸的链亲和素磁珠三次；
7. 测量：测定吸附反应前后上清液中核酸浓度，计算被磁珠结合核酸量；
8. 完成：根据后续实验要求，加入合适的缓冲液重悬磁珠，备用。

## 三、结合生物素化蛋白(抗体)

1. 取样：将链亲和素磁珠温和漩涡振荡 20 s 重悬均匀；取 50  $\mu\text{L}$  磁珠悬液到试管中；磁力分离保留链亲和素磁珠，用移液器吸去上清液；  
备注：需要据待分离生物素化分子的数量及大小，参考产品信息表中数据，确定磁珠需要量。
2. 洗涤：将 1.0 mL Buffer II 与磁珠混匀；移液器温和吹打重悬磁珠；磁分离去上清液；  
备注：当步骤 1 取用磁珠体积大于 1.0 mL 时，加入与磁珠体积相同的 Buffer II。
3. 再洗涤：重复“步骤 2”两次，再洗涤链亲和素磁珠两次；
4. 吸附：将 1.0 mL 用 Buffer II 稀释生物素化蛋白与洗涤后链亲和素磁珠混匀(磁珠浓度达 1.0 mg/mL)，温和充分振荡重悬；在四维旋转混合仪上，将混合物室温混合 $\sim$ 30 min；
5. 去除未结合成分：磁力分离保留磁珠，将上清液转移至新的离心管；
6. 洗涤：按“步骤 2”的方法，用缓冲液洗涤结合蛋白的链亲和素磁珠 3 次以上；
7. 测量：测定吸附反应前后上清液中蛋白浓度，计算被磁珠结合蛋白量；
8. 完成：据后续实验要求，加入 Buffer II 或其他合适缓冲液重悬磁珠，备用。

## 提示

1. 冷冻、干燥和离心会造成磁珠团聚，产品将无法再分散而失去效用；
2. 磁珠用前需重悬均匀，避免剧烈震荡产生气泡导致固定化蛋白变性；
3. 移液器吸头和反应管，都需避免因粘附磁珠而造成磁珠损失；
4. 所述产品保存液中含剧毒成分，避免吞咽，必须远离儿童；
5. 本产品严禁用于人体，仅限用于研究及体外诊断。

**附录 1：链亲和素磁珠产品规格及货号**

产品名称	产品型号	产品货号	产品规格	产品形式
链亲和素磁珠 (专利产品)	MSP-SAV-F1	18010106-0002g	0.10 mL*20 g/L (2 mg)	悬液, 塑料管
		18010106-0010g	0.50 mL*20 g/L (10 mg)	悬液, 塑料管
		18010106-0100g	5.0 mL*20 g/L (100 mg)	悬液, 塑料瓶
	MSP-SAV-Z1	18010206-0002g	0.10 mL*20 g/L (2 mg)	悬液, 塑料管
		18010206-0010g	0.50 mL*20 g/L (10 mg)	悬液, 塑料管
		18010206-0100g	5.0 mL*20 g/L (100 mg)	悬液, 塑料瓶

**附录 2：链(霉)亲和素磁珠的制备**

基于亲和作用磁分离分析广泛用于化学发光免疫分析、蛋白质相互作用分析、选择性捕获核酸检测特定基因突变等。磁分离分析需用亲水微米磁珠，并要求将发生亲和作用的一个已知成分固定在微米磁珠表面。核酸的固定化策略有限。对不同蛋白分别优化其在微米磁珠表面固定化过程耗时，当蛋白未饱和固定化时磁珠表面非特异吸附会使定量分析检测下限升高而降低其灵敏度。建立将蛋白固定化在微米磁珠表面的通用技术，并保障蛋白和磁珠加合物表面非特异吸附尽可能低，就有很重要的应用价值。

生物素与链(霉)亲和素的亲和力很高，且链亲和素水溶性好非特异吸附低；蛋白质氨基很容易进行生物素化修饰。所以，链亲和素磁珠是磁分离分析的通用材料。

本公司用专利技术(中国发明专利 ZL201610963764.X，授权日期 2017-10-17；国际申请号：PCT/CN2017/082374，美国专利已授权，欧洲、日本实审中)，成功制备强亲水羧基微米磁珠 MSP-COOH-Z1 和 MSP-COOH-F1。进一步活化表面羧基后，用特别设计流程偶联重组表达的链亲和素核心片段，制得链亲和素磁珠 MSP-SAV-Z1 和 MSP-SAV-F1。

本公司提供的链亲和素磁珠 MSP-SAV-Z1 和 MSP-SAV-F1，两种亚型的表面都未用任何蛋白或聚合物封闭，但对常见水溶性蛋白及疏水小分子非特异吸附都低于国际知名竞品。客户宜据具体应用要求用 BSA 或封闭剂对磁珠表面进行封闭以提升信噪比。

本公司通过自主建立的链亲和素磁珠分离性能指标和测量方法进行产品质检及质控，保障相同型号链亲和素磁珠不同批次产品的分离性能有高度重现性。本公司对链亲和素磁珠产品质量表征指标、质检测定方法及所用显色探针，都已申请中国发明专利且部分已获授权(申请号：201510157949.7，已获得授权通知将颁证；201811606187.4，受理时间 2018-12-27，实审中；申请号 201811619844.9，受理日期 2018-12-28，实审中)。

### 附录 3: 链亲和素的性能表征

#### S3.1 中性条件下链亲和素磁珠的悬浮稳定性

链亲和素磁珠悬浮在20 mM磷酸钠 pH 7.4缓冲液中，调节570 nm消光为1.25。悬浮稳定性用室温静置期间570 nm消光从1.25开始下降的比例定量表示；结果如图S1。

可见，MSP-SAV-Z1和MSP-SAV-F1的悬浮稳定性不逊于国际和国内的竞品。

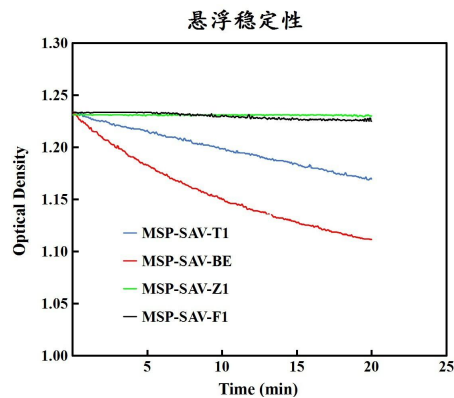


图 S1. 悬浮稳定性

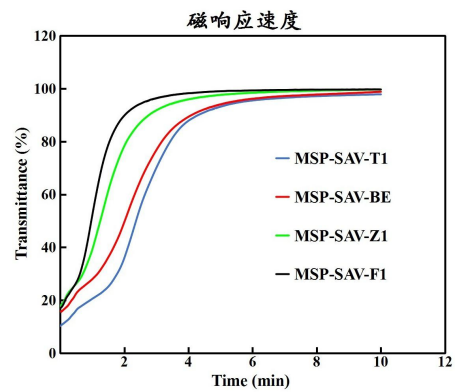


图 S2. 磁响应速度

#### S3.2 中性缓冲液中链亲和素磁珠的磁响应速度

链亲和素磁珠在20 mM磷酸钠 pH 7.4缓冲液中调570 nm透过率为10%。外加钕铁硼 N35磁场，透过率从10%升高到95%所需时间表示磁响应速度( $n > 2$ )；结果如图2。

可见，MSP-SAV-Z1和MSP-SAV-F1磁响应速度不逊于国际和国内的竞品。

#### S3.3 对非生物素化蛋白的非特异性吸附

链亲和素磁珠15  $\mu\text{g}$ ，加1.0 M Tris-HCl (pH7.4)稀释ECAP 200 ng，室温吸附30 min (吸附率 $< 5\%$ )；用4-硝基苯基磷酸酯测定吸附酶活性 (5.0 mM 显色底物，二乙醇胺-HCl缓冲液，pH 9.8；室温反应30 min，碱终止反应后测405 nm吸收增量)。可见(图S3)，MSP-SAV-Z1和MSP-SAV-F1对非生物素化蛋白非特异吸附低于检测限，不逊于国际和国内的竞品。

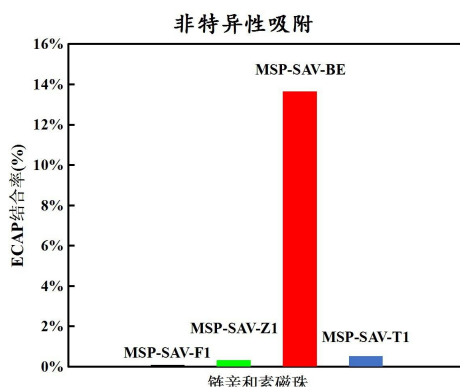


图 S3. 链亲和素磁珠对非生物素化蛋白的非特异性吸附

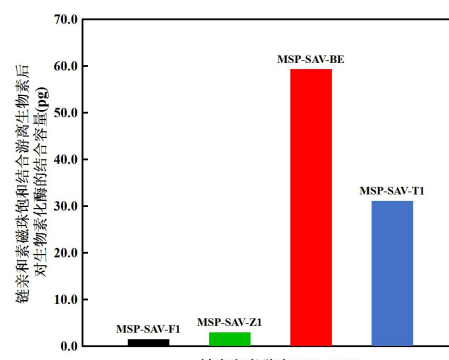


图 S4. 链亲和素磁珠饱和结合游离生物素后对生物素化蛋白的非特异性吸附



### S3.4 游离生物素饱和结合后对生物素化蛋白的非特异性吸附

链亲和素磁珠 4.0  $\mu\text{g}$ ，加 1.0 M Tris-HCl (pH7.4) 稀释  $>40$  pmol 游离生物素，室温吸附反应 10 min，再加 1.0 M Tris-HCl (pH7.4) 稀释 100 ng 生物素化牛小肠粘膜碱性磷酸酶 Bio-AP，室温吸附 30 min (吸附率  $<5\%$ )；用 4-硝基苯基磷酸酯测定吸附酶活性。结果表明(图 S4)。

可见，MSP-SAV-Z1 和 MSP-SAV-F1 对生物素化蛋白非特异吸附不逊于国际和国内竞品。

### S3.5 链亲和素磁珠的结合容量

链亲和素磁珠 4.0  $\mu\text{g}$ ，加 1.0 M Tris-HCl (pH7.4) 稀释 100 ng Bio-AP，室温吸附反应 10 min (吸附率  $<5\%$ )；用 4-硝基苯基磷酸酯测定吸附碱性磷酸酶的活性；结果见图 S5。

可见，MSP-SAV-Z1 和 MSP-SAV-F1 对生物素化蛋白的结合容量与国际竞品相当。

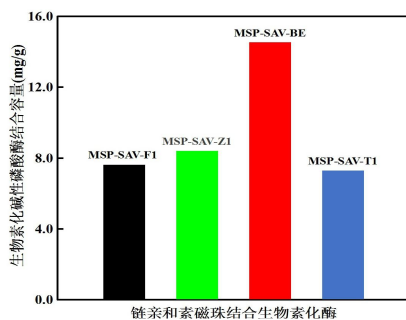


图 S5. 链亲和素磁珠结合容量

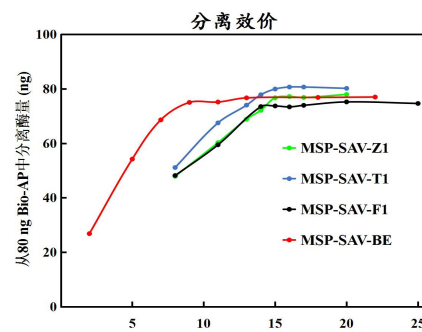


图 S6. 链亲和素磁珠分离效价

### S3.6 链亲和素磁珠分离生物素化碱性磷酸酶的效价

不同量链亲和素磁珠，加 1.0 M Tris-HCl (pH7.4) 稀释的 80 ng Bio-AP，室温吸附反应 10 min (吸附率  $<5\%$ )；分离吸附的酶，用 4-硝基苯基磷酸酯测定吸附碱性磷酸酶的活性。结果如图 S6。可见，MSP-SAV-Z1 和 MSP-SAV-F1 的分离效价与国际竞品相当。

### S3.7 链亲和素磁珠对仪器参数耐受性

科斯迈 SMART 6500，调整仪器参数测定链亲和素磁珠分离生物素化牛小肠粘膜碱性磷酸酶的催化发光信号(图 S7)。可见，MSP-SAV-Z1 和 MSP-SAV-F1 对设备参数变化的耐受性更强，在不同的全自动化学发光免疫检测设备具有更好的通用性和普适性。

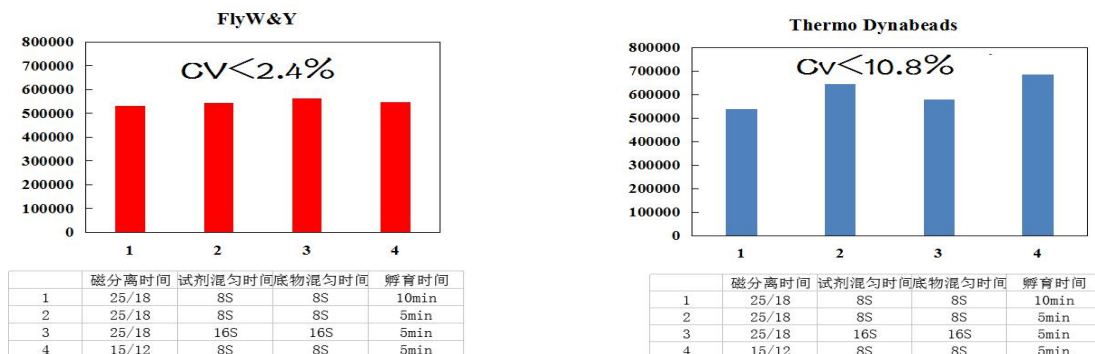


图 S7. 链亲和素磁珠在不同仪器参数下测定吸附酶催化发光信号的重现性

### S3.8 链亲和素磁珠加速老化试验

将链亲和素磁珠在 37 度，饱和湿度条件下加速老化 1-4 周，取适量链亲和素磁珠，加 1.0 M Tris-HCl (pH7.4) 稀释的 80 ng Bio-AP，室温吸附反应 10 min (吸附率<5%)；分离吸附的酶，用 4-硝基苯基磷酸酯测定吸附碱性磷酸酶的活性。结果可见(图 S8)。

本公司 5 个批次的 MSP-SAV-Z1，加速老化 1-4 周期间分离效价的 CV<8%。

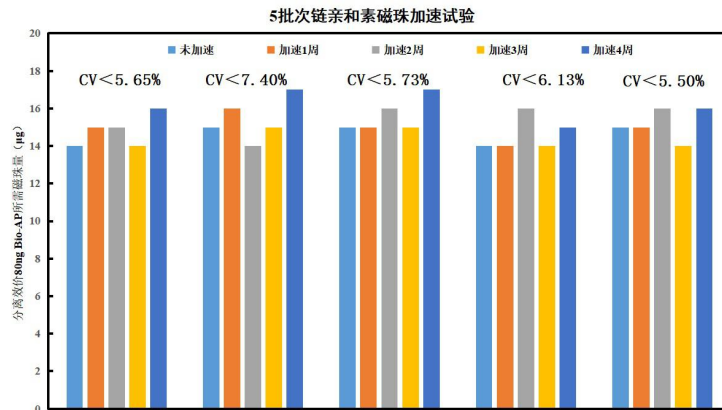


图 S8. 链亲和素磁珠加速试验

## 附录 4：链亲和素磁珠 MSP-SAV-Z1 第三方测评报告

### S4.1 实验系统

XXX 全自动化学发光分析仪、项目成品试剂盒、项目工作校准品、质控品；

实验组磁珠：链亲和素磁珠 MSP-SAV-Z1 (重庆博蓝鹰生物技术有限公司；5 个批号)

国内客户A 吖啶酯标记化学发光免疫分析应用测试报告										
	厂家1		厂家2(博蓝鹰)							
	参考磁珠		MSP-SAV-Z1-20180111-A001	MSP-SAV-Z1-20190423a	MSP-SAV-Z1-20190423b	MSP-SAV-Z1-20190423c				
理论浓度(mg/L)	发光值	mean	发光值	mean	发光值	mean	发光值	mean	发光值	mean
0	2960 5479	4220	1765 2586	2176	2753 2955	2854	2697 2242	2470	2810 2622	2716
0.28	293458 284145	288802	298993 289195	294094	310078 305831	307955	314609 322657	318633	326130 327234	326682
0.56	584350 572987	578669	589301 598625	593963	595044 566012	580528	646074 565956	606015	627933 582765	605349
1	1101707 1094307	1098007	1101334 1192310	1146822	1133928 1128858	1131393	1133240 1135481	1134361	1168858 1171544	1170201
1.88	1957740 2019369	1988555	2176833 2292617	2234725	2197491 2075212	2136352	2270842 2155380	2213111	2269138 2159870	2214504
3.73	4256138 4030833	4143486	4560612 4485378	4522995	4524157 4218244	4371201	4570761 4416899	4493830	4606811 4512744	4559778
8.43	7756449 7991474	7873962	8908547 8711587	8810067	8598005 8630191	8614098	8742301 8715951	8729126	8503533 8814494	8659014
9.77	9281741 9245031	9263386	10207415 10162083	10184749	10019701 10150486	10085094	9913854 10446020	10179937	10322152 10374836	10348494
B/A		68		135		108		129		120
相关系数r		0.9982		0.9984		0.9989		0.9985		0.9982
R <sup>2</sup>		0.9964		0.9969		0.9977		0.9971		0.9964

国内客户 A 所选参比磁珠未标明供应商。测试结果说明，与 MSP-SAV-Z1 相比，参比磁珠的本底高而最大信号偏低，导致参比磁珠对应信噪比低于 MSP-SAV-Z1。

国内客户B 吡啶酯标记化学发光免疫分析应用测试报告								
	分组	编号	信号值	信号值	均值	SD	CV%	B/A
厂家1 (博蓝鹰) (MSP-SAV-Z1)	产品批号 20181009-A002	A	5101	5984	5543	624	11.3	28.8
		B	158655	160662	159659	1419	0.9	
		F	12100757	12370737	12235747	190905	1.6	
	产品批号 20190423a	A	6021	8495	7258	1749	24.1	29.1
		B	210303	211689	210996	980	0.5	
		F	15021483	15515160	15268322	349082	2.3	
	产品批号 20190423b	A	7783	9637	8710	1311	15.1	23.3
		B	202433	202943	202688	361	0.2	
		F	14147271	14993822	14570547	598602	4.1	
	产品批号 20190423c	A	7956	7202	7579	533	7.0	28.6
		B	219213	213690	216452	3905	1.8	
		F	15359659	15686078	15522869	230813	1.5	
厂家2	D	A	470600	491900	481250	15061	3.1	1.7
		B	822653	789624	806139	23355	2.9	
		F	20497624	20842828	20670226	244096	1.2	
厂家3	T1	A	26143	24977	25560	824	3.2	11.4
		B	294985	287181	291083	5518	1.9	
		F	17928171	18170028	18049100	171019	0.9	

国内客户 B 选用参比磁珠为 D 和参比磁珠 T1，但是参比磁珠 D 及参比磁珠 T1 都未标明供应商。测试结果可见，尽管参考磁珠所得最大信号比 MSP-SAV-Z1 高约 15%，但其本底高太多，造成其信噪比反而比用 MSP-SAV-Z1 低很多。

国内客户D 碱性磷酸酶标记化学发光免疫分析系统的比较								
	分组	编号	信号值	信号值	均值	SD	CV%	B/A
厂家1	参考磁珠	A	687	397	542	205	37.8	13.1
		B	7333	6916	7125	295	4.1	
		F	2372015	2360677	2366346	8017	0.3	
厂家2 (博蓝鹰)	产品批号 20180111A	A	393	395	394	1	0.4	14.3
		B	5786	5499	5643	203	3.6	
		F	1985218	2009531	1997375	17192	0.9	

国内客户 D 所选参比磁珠未标明供应商。测试结果可见，尽管参比磁珠所得最大信号比 MSP-SAV-Z1 高约 15%，但其本底高约 30%且波动很大，造成其信噪比反而略低于 MSP-SAV-Z1。(MSP-SAV-Z1 批号 20180111A 是本公司试产的第一批产品)。