

## BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒

产品编号	产品名称	包装
P1602S	BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒(200nm)	50次
P1605S	BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒(500nm)	50次
P1610S	BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒(1μm)	50次

### 产品简介:

- 碧云天生产的BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒(BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads Coupling Kit), 也称羧基化磁珠偶联试剂盒、羧基衍生化磁珠偶联试剂盒、抗体偶联试剂盒、Amine Magnetic Beads Conjugation Kit、Carboxyl Derivatized Beads Coupling Kit、Antibody Coupling Kit、Antibody Conjugation Kit, 是一类采用了高质量的BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (羧基磁珠), 在特殊化学试剂(EDC和NHS)的作用下可快速、高效、灵敏、特异性地与多肽、蛋白、抗体、寡聚核苷酸等生物分子共价偶联的试剂盒。本试剂盒的偶联产物, 后续可以用于免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)、细胞分选、DNA-蛋白相互作用等, 是医学和生命科学研究中的重要工具。
- 磁分离是一种利用外部磁场对磁性材料的作用力, 在保留生物活性的同时结合并分离生物分子、细胞的方法, 具有吸附量大、分离速度快、效率高、可重复使用、操作简单等特点[1,2]。常规的四氧化三铁微球作为常用的磁性材料磁响应性高、生物相容性极佳, 但表面未经修饰, 不稳定, 易发生自身的聚集和沉淀。常见的含功能基团的磁珠有羧基磁珠和氨基磁珠, 是在磁珠的壳层结构包被有羧基或氨基官能团, 以降低磁珠本身的聚集和沉淀; 羧基磁珠显酸性, 在酸性缓冲液中通常用EDC/NHS等进行活化, 而氨基磁珠显碱性, 在碱性缓冲液中通常用戊二醛等进行活化。本系列试剂盒的羧基磁珠为羧基包覆的超顺磁性四氧化三铁微球的水相悬浮液, 采用的先进技术使磁珠与高分子材料或柠檬酸完美结合, 是一种新型功能化磁性微球。与传统磁珠相比, 本系列试剂盒的羧基磁珠具有超顺磁性、高羧基密度、快速磁响应性、单分散性、分离速度快、回收率高、特异性强等多方面的优点, 能便捷高效地与多种生物分子(多肽、蛋白、抗体等)进行高载量结合, 也可作为良好的基础材料进行包被、吸附、化学改性等后续处理。同时, 本系列试剂盒的羧基磁珠的聚合物/柠檬酸外壳可保护与磁珠结合的目标分子免受铁元素的负面影响。
- 本系列试剂盒的羧基磁珠与蛋白、抗体等生物分子共价偶联的基本原理如下。生物偶联是通过化学共价键结合生物分子的过程, 生物偶联试剂含有具有反应活性的末端, 可与特定功能基团(如伯氨基、巯基)反应。伯胺(-NH<sub>2</sub>)存在于每条多肽链的N-末端以及赖氨酸残基的侧链中。由于伯胺带正电荷, 因此它通常在蛋白质的外表面, 使其更易于偶联而不会改变蛋白质结构。碳二亚胺(Carbodiimides, EDC)和羧基反应可形成活性O-酰基异脲中间体, 随后中间体被伯氨基的亲核攻击并取代, 使羧基-氨基交联。但中间体不稳定, 易水解, 故常在反应体系中引入N-羟基琥珀酰亚胺(N-Hydroxysuccinimide, NHS)或其水溶性类似物(Sulfo-NHS)以提高效率。EDC使NHS与羧基反应, 生成稳定的NHS酯(NHS esters), 随后NHS酯在弱碱性条件下与伯胺反应, 形成稳定的酰胺键, 达到生物分子偶联的目的[3]。本系列试剂盒进行蛋白等生物分子偶联的流程参考图1。

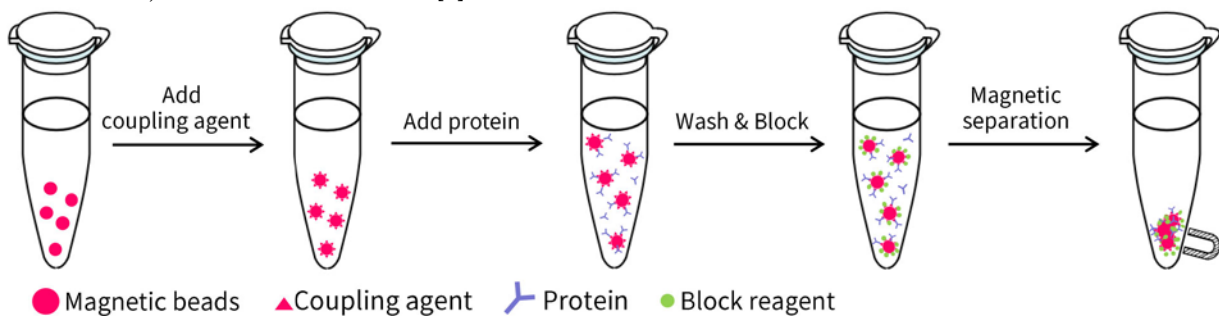


图1. 碧云天BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒生物分子偶联流程图(以偶联蛋白为例)。

- **本系列试剂盒使用便捷, 提供了配套试剂。**本系列试剂盒提供了羧基磁珠偶联反应所需的相关试剂, 唯一需要自备的是的抗体等待偶联的生物分子, 为生物分子的偶联带来了极大的便利。同时羧基磁珠储存在特殊保护液中, 不含甘油, 配合试剂盒提供的缓冲液, 可以通过磁性吸附实现快速高效的分离纯化, 无需离心操作。
- **本系列试剂盒的羧基磁珠特异性强, 配基密度高, 结合量高。**与国内外大多数的同类产品相比, 本系列试剂盒的羧基磁珠羧基密度高, 对带有伯氨基的生物分子具有很强的反应特异性。本系列试剂盒的羧基磁珠包含200nm、500nm和1μm三种粒径可供选择, 每毫升磁珠悬浊液含约10mg磁珠, 可反应结合不少于0.6mg IgG抗体, 具体的最大结合量和生物分子的分子量大小等相关。
- **本系列试剂盒的羧基磁珠与生物分子的反应速度快。**本系列试剂盒的羧基磁珠羧基密度高, 羧基磁珠活化后能快速地与带有伯氨基生物分子发生偶联, 节省了操作时间。
- **本系列试剂盒的羧基磁珠分散性和重悬性良好。**本系列试剂盒的羧基磁珠进行了高分子材料修饰, 避免了磁珠的团聚, 使磁珠具

有良好的单分散性和稳定的物理化学性质，磁珠进行生物分子偶联反应时具有很好地重复性和便捷性。

➤ 本系列试剂盒的羧基磁珠的主要指标请参考下表：

Product Cat. No.	P1602	P1605	P1610
Product content	10mg/ml magnetic beads in specific protective buffer	10mg/ml magnetic beads in specific protective buffer	10mg/ml magnetic beads in specific protective buffer
Beads size	~200nm	~500nm	~1 $\mu$ m
Density of carboxyl	~200 $\mu$ mol/g	~200 $\mu$ mol/g	~300 $\mu$ mol/g
Type of magnetization	Superparamagnetic (no magnetic memory)	Superparamagnetic (no magnetic memory)	Superparamagnetic (no magnetic memory)
Magnetic core	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
Shell	Citric acid	Polymer	Polymer

➤ 碧云天各种官能团、粒径磁珠的差异及选择：

	羧基磁珠	氨基磁珠	NHS磁珠
官能团	-COOH	-NH <sub>2</sub>	-NHS
产品编号-裸磁珠	ST401/ST403/ST405	ST412/ST415/ST418	ST422/ST425/ST428
产品编号-试剂盒	P1602/P1605/P1610	P1612/P1615/P1620	P1622/P1625/P1630
活化要求	EDC/NHS活化	戊二醛活化	无须活化，直接使用
200nm	吸附速度稍慢，同浓度下载量较高，非特异性略强		
500nm	介于200nm和1 $\mu$ m之间		
1 $\mu$ m	吸附速度稍快，同浓度下载量稍低，非特异性略弱		

➤ 按每次使用100 $\mu$ l磁珠悬液进行偶联，本系列试剂盒小包装可使用50次。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P1602S-1	BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (200nm)	5ml
P1602S-2	Activation Buffer (10X)	10ml
P1602S-3	Reaction Buffer (10X)	16ml
P1602S-4	EDC	50mg
P1602S-5	NHS	50mg
P1602S-6	Blocking Solution	25ml
P1602S-7	Protective Solution	5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P1605S-1	BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (500nm)	5ml
P1605S-2	Activation Buffer (10X)	10ml
P1605S-3	Reaction Buffer (10X)	16ml
P1605S-4	EDC	50mg
P1605S-5	NHS	50mg
P1605S-6	Blocking Solution	25ml
P1605S-7	Protective Solution	5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P1610S-1	BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (1 $\mu$ m)	5ml
P1610S-2	Activation Buffer (10X)	10ml
P1610S-3	Reaction Buffer (10X)	16ml
P1610S-4	EDC	50mg
P1610S-5	NHS	50mg
P1610S-6	Blocking Solution	25ml
P1610S-7	Protective Solution	5ml
—	说明书	1份

## 保存条件：

BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads 4°C保存，其它试剂-20°C保存，至少两年有效。

## 注意事项：

- 如有需要，也可单独订购碧云天的各种规格的羧基磁珠，如BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (200nm) (ST401)、BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (500nm) (ST403)、BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (1μm) (ST405)。
- 须根据生物分子的特性选择合适的功能基团及粒径的磁珠。
- 本系列试剂盒羧基磁珠需维持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。
- 本系列试剂盒羧基磁珠使用前要适当充分重悬，即颠倒若干次使磁珠混合均匀，充分震荡或超声使磁珠呈均匀的悬浮状态。
- 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。
- 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. 试剂的准备：

- Activation Buffer (1X)的配制：用超纯水(ST872)稀释Activation Buffer (10X)至1X，例如取1ml Activation Buffer (10X)加入9ml超纯水中，混匀即得10ml Activation Buffer (1X)。
- Reaction Buffer (1X)的配制：用超纯水(ST872)稀释Reaction Buffer (10X)至1X，例如取1ml Reaction Buffer (10X)加入9ml超纯水中，混匀即得10ml Reaction Buffer (1X)。

### 2. 羧基磁珠准备：

由于磁珠储存在特殊保护液中，所以需要在加入样品前适当洗涤。以下以100μl磁珠悬液为例。

- 用移液器轻轻吹打重悬磁珠，取100μl磁珠悬液至一洁净离心管中(FTUB015)，磁性分离去除上清，用500μl Activation Buffer (1X)重悬磁珠。
- 用移液器轻轻吹打磁珠，置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离10秒，去除上清。重复上述步骤两次。
- 按照初始体积的量，用100μl Activation Buffer (1X)重悬磁珠。

### 3. 羧基磁珠表面羧基活化：

- EDC Solution的配制：称取适量EDC，用Activation Buffer (1X)配制浓度为10mg/ml的EDC Solution。例如称取10mg的EDC溶于1ml Activation Buffer (1X)中，混匀即得1ml EDC Solution。  
注：EDC Solution须现用现配。
- NHS Solution的配制：称取适量NHS，用Activation Buffer (1X)配制浓度为10mg/ml的NHS Solution。例如称取10mg的NHS溶于1ml Activation Buffer (1X)中，混匀即得1ml NHS Solution。  
注：NHS Solution须现用现配。
- 步骤2c重悬后的磁珠加入新鲜配制的100μl EDC Solution和100μl NHS Solution，涡旋混匀使磁珠充分悬浮，25°C活化30-60分钟，期间为保持磁珠的悬浮状态，可置于侧摆摇床或旋转混合仪上进行活化反应。推荐使用BeyoShaker™数字式翘板摇床(E6673)或BeyoVortex™基础型旋转混匀仪(E6800)。  
注：磁珠表面的羧基活化后，可与带伯氨基的生物分子进行共价偶联，但活化状态不宜长时间保持，建议立即进行偶联反应。

### 4. 羧基磁珠偶联生物分子(以蛋白为例)：

- 磁分离。磁珠活化完毕后，置于磁力架上分离10秒，去除上清。
- 偶联。加入100μl蛋白溶液(0.5-2mg/ml)，蛋白溶液可用Reaction Buffer (1X)配制，轻柔地混匀。测试反应前体系中的蛋白浓度(记录为c1)。25°C偶联2小时，或者25°C偶联1小时后转入4°C过夜进行偶联，期间保持磁珠的悬浮状态，可置于侧摆摇床或旋转混合仪上进行偶联反应。

### 5. 羧基磁珠封闭：

- 反应结束后，置于磁力架上分离10秒，去除上清。测试反应后体系中的蛋白浓度(记录为c2)，c1和c2可用于计算磁珠偶联的蛋白量。
- 加入500μl Reaction Buffer (1X)重悬磁珠，用移液器轻轻吹打磁珠，置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离10秒，去除上清。重复本步骤两次。
- 加入200-500μl Blocking Solution重悬磁珠，25°C反应2-4小时或4°C反应过夜，以封闭磁珠表面未结合的位点，期间保持磁珠的悬浮状态，可置于侧摆摇床或旋转混合仪上进行封闭反应。

### 6. 磁珠保存：

- 反应结束后，置于磁力架上分离10秒，去除上清。用200-500μl Reaction Buffer (1X)重悬磁珠。
- 用移液器轻轻吹打磁珠，置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离10秒，去除上清。重复上述步骤两次。
- 加入50-100μl Protective Solution重悬磁珠，保存于2-8°C。如有必要，可以测试制备好的磁珠是否适合-20°C保存。

## 参考文献：

- Haukanes BI, Kvam C. Biotechnology (N Y). 1993. 11(1):60-3.
- He J, Huang M, Wang D, Zhang Z, Li G. J Pharm Biomed Anal. 2014. 101:84-101.
- León-Janampa N, Zimic M, Shinkaruk S, Quispe-Marcatoma J, Gutarra A, et al. Nanotechnology. 2020. 31(17):175101.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
ST401	BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (羧基磁珠, 200nm)	5ml/50ml/200ml
ST403	BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (羧基磁珠, 500nm)	5ml/50ml/200ml
ST405	BeyoMag™ Carboxyl Magnetic Beads (羧基磁珠, 1μm)	5ml/50ml/200ml
ST412	BeyoMag™ Amine Magnetic Beads (氨基磁珠, 200nm)	5ml/50ml/200ml
ST415	BeyoMag™ Amine Magnetic Beads (氨基磁珠, 500nm)	5ml/50ml/200ml
ST418	BeyoMag™ Amine Magnetic Beads (氨基磁珠, 1μm)	5ml/50ml/200ml
P1602S	BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒(200nm)	50次
P1605S	BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒(500nm)	50次
P1610S	BeyoMag™羧基磁珠偶联试剂盒(1μm)	50次
P1612S	BeyoMag™氨基磁珠偶联试剂盒(200nm)	50次
P1615S	BeyoMag™氨基磁珠偶联试剂盒(500nm)	50次
P1620S	BeyoMag™氨基磁珠偶联试剂盒(1μm)	50次
ST025	BSA (Fatty Acid & IgG Free, BioPremium)	5g/20g/100g
ST853	ProClean 300(抑菌防腐剂)	50ml/250ml/1L
FMS012	BeyoMag™磁分离架(12孔)	1个/袋
FMS024	BeyoMag™磁分离架(24孔)	1个/袋
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
FMS009	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS015	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
E6673	BeyoShaker™数字式翘板摇床	1套
E6800	BeyoVortex™基础型旋转混匀仪	1套

Version 2024.06.05