

SileksMag-COH

активированные магнитные частицы для прямой ковалентной иммобилизации антител, белков, ферментов, нуклеотидных зондов

Кат. номер: K0175

Назначение: ковалентная иммобилизации антител, белков, ферментов, нуклеотидных зондов

Условия хранения: +4°C

Условия транспортировки: особых условий не требуется

Содержание:

1. Описание	1
2. Важная информация	2
3. Рекомендуемые буфера	2
4. Протокол иммобилизации	3
5. Связанные продукты	4
6. Контактные данные	4

1. Описание

SileksMag-COH активированные магнитные частицы для прямой ковалентной иммобилизации антител, белков, ферментов, нуклеотидных зондов. Использование частиц возможно также в системах автоматического выделения.

SileksMag-COH магнитные частицы покрыты гидрофильным инертным носителем и имеют на поверхности готовые для использования альдегидные группы. Наличие альдегидных групп позволяет осуществить прямую стабильную ковалентную пришивку лиганда, содержащего амино группу.

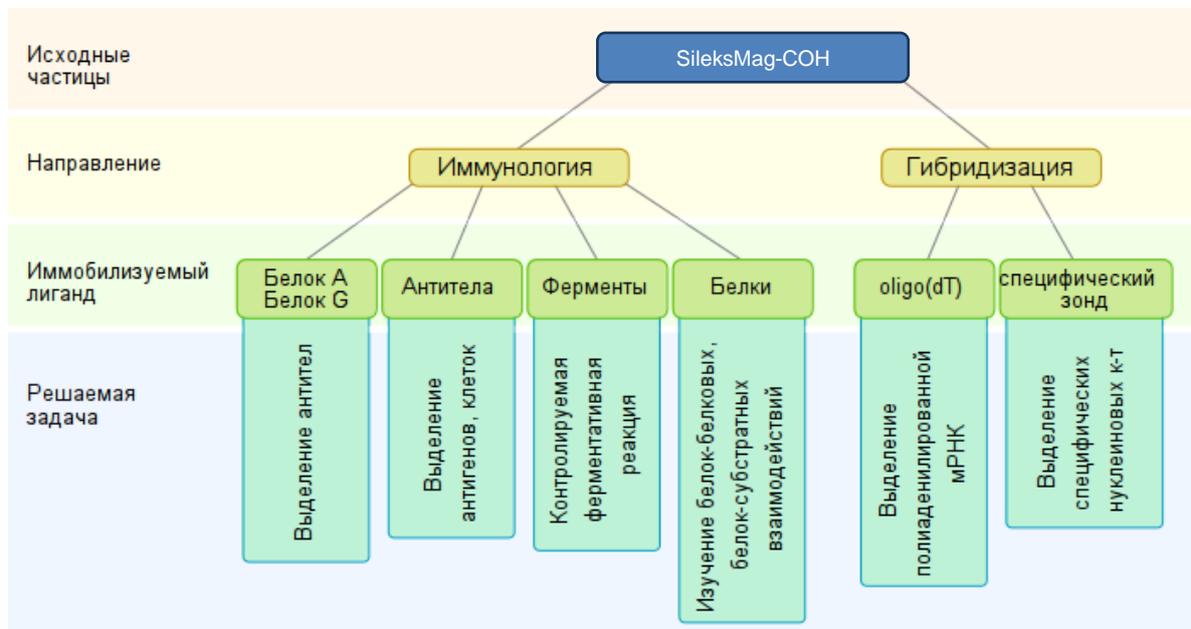
Основные преимущества предлагаемых частиц:

- **низкое неспецифическое связывание**
- **возможность прямой ковалентной иммобилизации**
- **отличная ресуспендируемость**

Таблица 1. Описание и свойства магнитных частиц SileksMag-COH

Основа	Оксид железа
Тип магнетизации	Суперпарамагнетик (нет остаточного намагничивания)
Форма частиц	Сфера
Размер	150-200 нм
Концентрация	50 мг/мл
Емкость частиц:	
PBS	2400 мкг БСА на 1 мл частиц, 48 мкг БСА на 1 мг частиц
Карбонатный буфер	1800 мкг БСА на 1 мл частиц, 35 мкг БСА на 1 мг частиц
Буфер хранения	PBS
Условия хранения	+4 °C, не замораживать

Использование SileksMag-COH частиц, в зависимости от иммобилизованного лиганда, позволяет решать следующие задачи:



2. Важная информация

- Не подвержайте частицы процедурам центрифугирования, замораживания и высушивания. Центрифугирование приводит к агрегации частиц и, как следствие, снижению их активности. Высушивание и замораживание также приводит к агрегации частиц.
- Перед началом работы проведите расчет необходимого количества частиц и лиганда, исходя из емкости применяемых частиц.
- Оптимальное время для иммобилизации - 24 часа. В течение суток инкубации достигается максимальная эффективность иммобилизации.
- Процедуру иммобилизации можно проводить в диапазоне температур от комнатной (+22 °C) до +4 °C. Температура проведения процедуры иммобилизации определяется свойствами иммобилизуемого лиганда и его стабильности при конкретной температуре.

3. Рекомендуемые буфера

Буфера для иммобилизации

Для иммобилизации белков мы рекомендуем использовать фосфатные, карбонатные или бикарбонатные буфера с pH от 7 до 10.

Основное требование к буферу, отсутствие в буфере компонентов, содержащих амино группу.

Мы предлагаем также буфер для иммобилизации, позволяющий в большинстве случаев решить задачу по иммобилизации белковых молекул:

- *Рекомендуемый Буфер для Иммобилизации*
1-кратный PBS или карбонатный буфер (0.1 M NaHCO₃ pH 10, 0.5 M NaCl)

4. Протокол иммобилизации

Оборудование и реактивы, необходимые для работы

- 1.5 мл пробирки
- Магнитные частицы с активированной поверхностью
- Лиганд, содержащий амино группу
- Буфер для иммобилизации
- Натрия борогидрид
- Магнитный штатив для пробирок 1.5 мл
- Ротатор или иное приспособление для постоянного перемешивания

Процедура иммобилизации

Процедура иммобилизации рассчитана на пришивку приблизительно 50 мкг белка (в пересчете на БСА) на 25 мкл активированных магнитных.

100 мкг БСА соответствует приблизительно 100 мкг антител.

100 мкг БСА содержит приблизительно 10^{15} молекул.

Для пересчета соответствующего количества белка или нуклеотидной пробы можно воспользоваться следующими ссылками:

Weight to Molar Quantity (for proteins): www.bioline.com/us/media/calculator/01_04.html

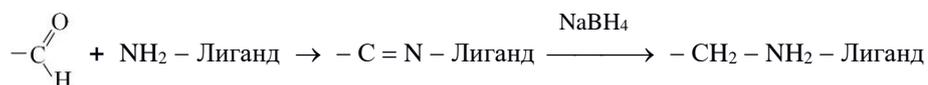
Weight to Molar Quantity (for nucleic acids): www.bioline.com/us/media/calculator/01_07.html

Внимание! Перед использованием магнитные частицы необходимо тщательного ресуспендировать в соответствующем буфере.

Лиганд для иммобилизации

Лиганд: антитела, белки, ферменты, нуклеотидные зонды, другие биомолекулы.

Схема реакции иммобилизации:



1. Поместите 25 мкл частиц в пробирку. Поместите пробирку в магнитный штатив и удалите супер. Добавьте 300 мкл буфера для иммобилизации, ресуспендируйте частицы и удалите супер, поместив пробирку в магнитный штатив.
2. Приготовьте в отдельной пробирке препарат для иммобилизации в буфере для иммобилизации из расчета 50 мкг препарата (из расчета БСА) на 25 мкл частиц. Суммарный объем должен быть не меньше 400 мкл. Максимальный объем не имеет особого значения. Желательно для 25 мкл использовать 1 мл буфера для иммобилизации с препаратом для иммобилизации.
3. Иммобилизацию, если позволяет стабильность препарата, можно проводить при комнатной температуре. Если препарат при комнатной температуре нестабилен, иммобилизацию лучше проводить при охлаждении. Максимальная эффективность иммобилизации достигается через 24 часа. В процессе иммобилизации частицы должны равномерно распределяться в объеме. Для равномерного перемешивания частиц мы рекомендуем использовать ротатор.
4. После окончания процедуры иммобилизации отмойте частицы от несвязавшегося лиганда буфером для иммобилизации.

5. Ресуспендируйте частицы с иммобилизованным препаратом в 400 мкл буфера для иммобилизации и внесите в пробирку 10 мг натрия борогидрида. Тщательно перемешайте суспензию до полного растворения соли. Инкубируйте пробирку при комнатной температуре в течение 30 минут, периодически перемешивая содержимое пробирки пипетированием. Не закрывайте пробирку в процессе инкубации, чтобы не препятствовать выходу образующегося водорода.
6. Промойте частицы несколько раз буфером, подходящим для иммобилизованного препарата.
7. Храните частицы в буфере, подходящим для иммобилизованного препарата. Желательно добавить в буфер азид натрия и Tween20.

5. Связанные продукты

- SileksMag-COH , активированные магнитные частицы, кат. номер K0175
- LabMix Mini 201, лабораторный миксер, кат. номер EQMM201
Миксер позволяет ускорить процедуру выделения, заменяя пипетирование
- Магнитные штативы для работы с магнитными частицами:
MagRack6, кат. номер EQMR006-2
MagRack16, кат. номер EQMR016
MagRack40, кат. номер EQMR040
MagRack50ML, кат. номер EQMR50ML

6. Контактные данные

Если у Вас есть вопросы или Вы нуждаетесь в консультации:

телефон: +7 495 737 4224
+7 495 998 4288

эл. почта: info@sileks.com