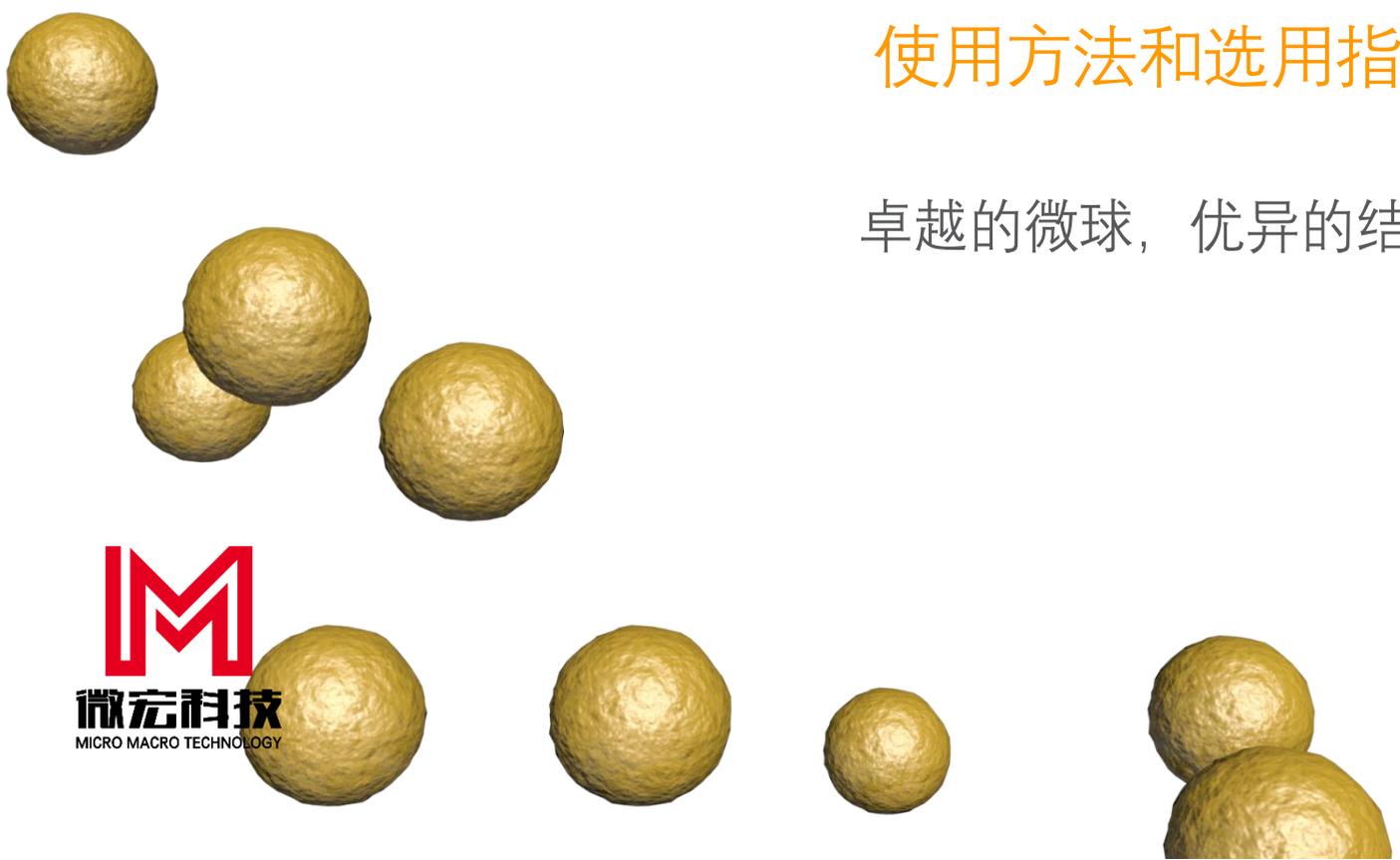


# 羧基磁性微球 使用方法和选用指南

卓越的微球，优异的结果



# 请您选择

我们提供两个系列、多种尺寸大小的羧基磁性微球产品供您选择（表 1）。请根据您的样本特性和应用目标，以及缓冲溶液体系、下游应用需求等进行选择。

**MagnoMind 磁性微球** 通过特殊工艺，将超顺磁纳米粒子均匀内嵌于微球内部而得到。在磁场作用下可以迅速迁移，磁场撤除后无剩磁，能很快重新分散。磁性部分之外包裹一层聚合物，将磁颗粒完全封闭在微球内部。最后在表面修饰一层特殊亲水材料（同样应用于本公司所有磁性微球类产品），赋予微球亲水性、极佳的悬浮稳定性。可如液体一般进行取用，操作方便，且可以适应不同的缓冲溶液和酸碱环境。规整的球形形貌，可将非特异性吸附作用降至最低，并降低微球团聚的风险。其在水相中的悬浮稳定性优异，可适应广泛的 pH 范围和不同缓冲溶液体系。

**MagnoSpeed 磁性微球** 在磁性球核的外层包裹聚合物而得到。与 MagnoMind 系列磁性微球相比，磁性物质含量更高，因而磁响应速

度有较大提升，可加快分离速度，提高试验效率。MagnoSpeed 磁性微球粒径更小，尤其适用于核酸、多肽、小分子提取纯化等领域。

- ➔ 极佳的物理、化学稳定性
- ➔ 稳定的产品性能，保证试验结果的一致性和重复性
- ➔ 超顺磁性，磁分离迅速，且外加磁场消除后无剩磁
- ➔ 极低的非特异吸附作用，基本不受样本中杂蛋白影响
- ➔ 致密的壳层包裹，磁颗粒无暴露风险
- ➔ 不含表面活性剂，无需任何预处理或清洗，可直接使用
- ➔ 在 1-13 pH 范围内可以稳定分散
- ➔ 通用的固相载体，可以结合任何含有伯氨基的物质，能够适应各种应用情景

表 1. 不同规格羧基磁性微球产品的特性及应用实例

产品	基本性质	粒径 (μm)	基团含量 (μmol/g)	结合特性	应用实例
MagnoMind 磁性微球	亲水表面羧基修饰	1.0	400-600	需要使用活化剂（如 EDC/NHS）对羧基进行活化 与目标分子中的伯氨基形成稳定的酰胺键 100%共价结合，被动吸附作用极弱 偶联反应迅速 反应条件温和，pH 5-6，室温或冰点以上低温反应 每 mg 微球一般可以结合 10-15 μg IgG	作为不稳定蛋白或多肽的固相载体 蛋白免疫沉淀反应 纯化蛋白，尤其性质活泼、对热不稳定的蛋白 酶促反应研究 结合蛋白 A 和蛋白 G 细胞分离 体外诊断
MagnoMind 磁性微球	亲水表面羧基修饰	2.0	200-250	需要使用活化剂（如 EDC/NHS）对羧基进行活化 与目标分子中的伯氨基形成稳定的酰胺键 100%共价结合，被动吸附作用极弱 偶联反应迅速 反应条件温和，pH 5-6，室温或冰点以上低温反应 每 mg 微球一般可以结合 5-10 μg IgG	作为不稳定蛋白或多肽的固相载体 蛋白免疫沉淀反应 纯化蛋白，尤其性质活泼、对热不稳定的蛋白 酶促反应研究 结合蛋白 A 和蛋白 G 细胞分离 体外诊断
MagnoSpeed 磁性微球	亲水表面羧基修饰 增强的磁响应能力	0.3	1000-1200	需要使用活化剂（如 EDC/NHS）对羧基进行活化 与目标分子中的伯氨基形成稳定的酰胺键 100%共价结合，被动吸附作用极弱 偶联反应迅速 反应条件温和，pH 5-6，室温或冰点以上低温反应 每 mg 微球一般可以结合 15-20 μg IgG	作为不稳定蛋白或多肽的固相载体 特定序列 DNA/RNA 的检测 高通量核酸提取和纯化
MagnoSpeed 磁性微球	亲水表面羧基修饰 增强的磁响应能力	0.5	800-1000	需要使用活化剂（如 EDC/NHS）对羧基进行活化 与目标分子中的伯氨基形成稳定的酰胺键 100%共价结合，被动吸附作用极弱 偶联反应迅速 反应条件温和，pH 5-6，室温或冰点以上低温反应 每 mg 微球一般可以结合 15-20 μg IgG	作为不稳定蛋白或多肽的固相载体 特定序列 DNA/RNA 的检测 高通量核酸提取和纯化

注：微球可以结合的配体实际量与所用 IgG 的分子大小、空间构象、所含伯氨基数量、等电点以及反应过程中的分散状态等有关。

# 磁性微球分离技术

- ➔ 无需离心、沉降或过柱纯化
- ➔ 液相反应，比表面积大，提高反应效率
- ➔ 操作简便，无样本丢失
- ➔ 快速磁性分离，高速高效

本公司研发的 MagnoMind 系列和 MagnoSpeed 系列磁性微球，具有均一的尺寸大小和一致的磁性物含量，确保每次反应过程的一致性。在磁性微球表面修饰羧基之后，可通过简单、温和、快速的 EDC-NHS 活化方法将表面的羧基基团转变为活性酯基团，进而可直接与您所需连接目标分子中的伯氨基发生化学结合。本公司的磁性微球系列产品皆具有规则的球形形貌，且外层包裹有致密的聚合物涂层，不会发生磁性物质的外露，同时也避免了化学凝集或者非特异吸附的发生。由于具有超顺磁特性，磁性微球在外加磁场作用下可以快速迁移分离，而外磁场撤除时又可以立刻重新分散，可实现快速的“分离-分散”循环操作。

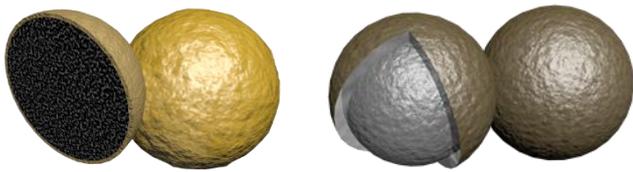


图 1. MagnoMind 磁性微球、MagnoSpeed 磁性微球结构示意图

## 表面性质

磁性微球表面修饰大量羧基后，其亲水性大大增强，因而可以在水中分散为稳定的悬液，而不需要加入分散助剂（如表面活性剂），可以类似液体一般方便的取用。MagnoMind 系列和 MagnoSpeed 系列磁性微球都具有亲水的表面性质，可以抑制非特异吸附作用的发生，确保 100% 化学结合。

## 磁响应能力

MagnoMind 系列磁性微球的磁含量一般在 20% 左右，可以满足通用试验的需求。MagnoSpeed 系列磁性微球，磁含量一般在 40% 以上，与 MagnoMind 系列相比，磁分离速度提高 2 倍以上，能够满足高速、高通量自动化试验的需求。

## 尺寸大小

对于蛋白质、核酸或类似的生物分子，推荐使用尺寸更小的 MagnoSpeed 系列磁性微球，或者 1.0 微米的 MagnoMind 磁性微球。大尺寸的 2.0 微米 MagnoMind 磁性微球，更适合用于分离细胞等较大的目标物，由于微球较大，即使在高粘度的体系中也能很快实现磁分离。

## 反应特性

羧基修饰的磁性微球通过与活化剂（如 EDC/NHS）的反应转化为活性酯后，即可与伯氨基形成酰胺键，操作简捷，反应迅速。本公司磁性微球表面修饰的羧基基团具有 10 个左右“碳-碳”键长度的间隔臂，基团与微球表面留有一定的空间，更有利于配体与微球的结合。

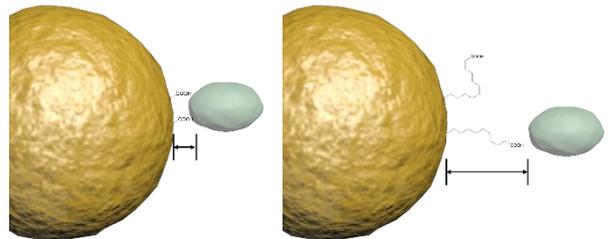


图 2. 微球表面羧基具有一定长度的间隔臂更有利于配体与微球的结合

## 适配目标物

请根据所需要连接的配体选用合适的磁性微球（可参考表 2）。此外，还应考虑结合配体的耐受性、分子大小、带电荷情况，单个微球需要连接配体的多少等。[请向我们申请免费试用装进行试验](#)，根据试验结果进行选择。

表 2. 不同配体与磁性微球的适配情况。本表仅供参考，请向我们申请免费使用装，通过试验摸索最佳匹配。

配体	目标物	MagnoMind 1.0 $\mu\text{m}$	MagnoMind 2.0 $\mu\text{m}$	MagnoSpeed 0.3 $\mu\text{m}$	MagnoSpeed 0.5 $\mu\text{m}$
抗体	小分子抗原或多肽	最佳	最佳	可用	可用
	蛋白质或抗体	最佳	最佳	可用	可用
	蛋白质复合物	最佳	最佳	可用	可用
	噬菌体	可用	最佳	可用	可用
	病毒	可用	最佳	可用	可用
	细菌 细胞	可用 可用	最佳 最佳	可用 可用	可用 可用
蛋白质	噬菌体或糖类 核酸	可用 可用	最佳 可用	可用 最佳	可用 最佳
多肽	噬菌体或抗体	可用	可用	最佳	最佳
糖类	抗体	可用	可用	可用	可用
小分子抗原	抗体	可用	可用	最佳	最佳
核酸、低聚核苷酸、核酸适配体、肽核酸	核酸结合蛋白 DNA\RNA\PCR 扩增子	可用 可用	可用 可用	可用 最佳	可用 最佳
酶	酶促反应底物	最佳	最佳	可用	可用

## 羧基偶联技术

### 反应原理

碳化二亚胺是一种常见的缩合试剂，一般用于将氨基与羧基连接得到酰胺键或将磷酸盐与氨基连接得到氨基磷酸酯。N-取代的碳化二亚胺（例如 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺，EDC，一般使

用的是水溶性的盐酸盐）可以与羧基形成活性很强的  $\sigma$ -酰基异脲活性基团。该活性基团可以与亲核试剂（例如伯氨基）形成酰胺键（图 3），其他亲核基团例如巯基也可以发生类似的反应。

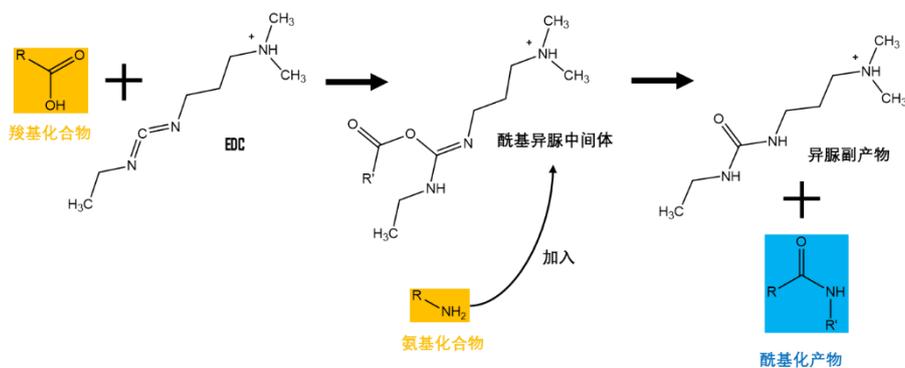


图 3. EDC 活化羧基化合物与氨基化合物生成酰基产物的反应式

由于  $\sigma$ -酰基异脲活性基团活性太强，在水中很快发生水解而影响缩合反应效率，因此经常与 N-羟基琥珀酰亚胺（NHS）联用。NHS 酯是最常见的一类活性酰基化试剂，可以与亲核试剂反应生成酰基化产物。尤其当与伯氨基或仲氨基反应时，对应生成的酰胺键（图 4）和酰亚胺键都是很稳定的。当 EDC 与 NHS 联用时可以在水

体系中将分子中的羧基转化为活性的但更为稳定的 NHS 酯基，需要注意的是 NHS 酯的水溶性相对较差，可能导致活化之后羧基磁性微球在水中的分散性下降。使用 N-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐（sulfo-NHS），可以有效避免该问题的发生，sulfo-NHS 酯的反应特异与 NHS 酯一致而水溶性更好，寿命更长水解更慢。

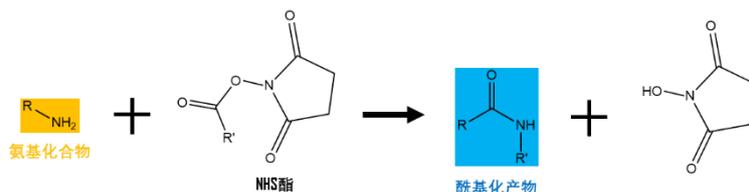


图 4. NHS 酯与氨基化合物生成酰基产物的反应式

## 使用方法

以 MagnoMind 1.0 微球羧基磁性微球 (MM101) 为例, 此次给出羧基磁性微球结合配体的操作方法 (图 5), **最佳偶联方案应根据实际实验情况制定**。根据反应操作的差异可以分为“一步法”和“二步法”, 分别适用于耐受性较好较稳定的配体和不稳定配体。

### 试剂与设备

偶联反应液: 0.01 M MES 缓冲液 pH 5.0 (MES: 2-吗啉乙磺酸)

清洗液: TBS-T (25 mM Tris-HCl 缓冲液, pH 7.2, 0.15 M NaCl, 0.05 % Tween20)

偶联剂: 10 mg/mL EDC 以及 15 mg/mL NHS **用偶联反应液一并溶解, 现用现配**。(EDC: 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐, NHS:N-羟基琥珀酰亚胺)

装置: 磁性分离器, 超声清洗器, 涡旋混合仪, 翻转混匀器。

#### [一步法] 适用于性质较稳定抗体 (配体)

1. 将 MM101 通过涡旋或者超声作用分散, 得到均匀的分散液。取用所需量的微球 (例如 10mg) 加入容器中, 加水稀释至 10mg/mL。
2. 将容器置于磁性分离器分离 1 分钟 (必要时延长分离时间), 待完全分离后吸除液体。
3. 加入 1 mL 偶联反应液, 将微球重新涡旋 (超声) 分散均匀。
4. 加入 200  $\mu$ g 抗体, 涡旋 (超声) 分散均匀。
5. 将容器置于翻转混匀器, 继续在室温下混合 30 分钟。
6. 加入 100  $\mu$ L 偶联剂, 涡旋 (超声) 分散均匀。
7. 在翻转混匀器上继续于室温下反应 3 小时。
8. 按照步骤 2 中的方法除去液体。
9. 加入 1 mL 的清洗液, 并涡旋 (超声) 分散均匀。
10. 按照步骤 2 中的方法除去液体。
11. 重复步骤 9-10 共计 4 次。
12. 选用合适的缓冲液将微球重新分散, 并在 2-8 $^{\circ}$ C 下保存。

#### [二步法] 适用于敏感抗体 (配体)

1. 将 MM101 通过涡旋或者超声作用分散, 得到均匀的分散液。取用所需量的微球 (例如 10mg) 加入容器中, 加水稀释至 10mg/mL。
2. 将容器置于磁性分离器分离 1 分钟 (必要时延长分离时间), 待完全分离后吸除液体。
3. 加入 1 mL 偶联反应液, 将微球重新涡旋 (超声) 分散均匀。
4. 加入 100  $\mu$ L 偶联剂, 涡旋 (超声) 分散均匀。
5. 将容器置于翻转混匀器, 继续在室温下反应 30 分钟。
6. 按照步骤 2 中的方法除去液体。
7. 加入 1 mL 偶联反应液, 将微球重新涡旋 (超声) 分散均匀。
8. 加入 200  $\mu$ g 抗体, 涡旋 (超声) 分散均匀。
9. 在翻转混匀器上继续于室温下反应 3 小时。
10. 按照步骤 2 中的方法除去液体。
11. 加入 1 mL 的清洗液, 并涡旋 (超声) 分散均匀。
12. 按照步骤 2 中的方法除去液体。
13. 重复步骤 11-12 共计 4 次。
14. 选用合适的缓冲液将微球重新分散, 并在 2-8 $^{\circ}$ C 下保存。

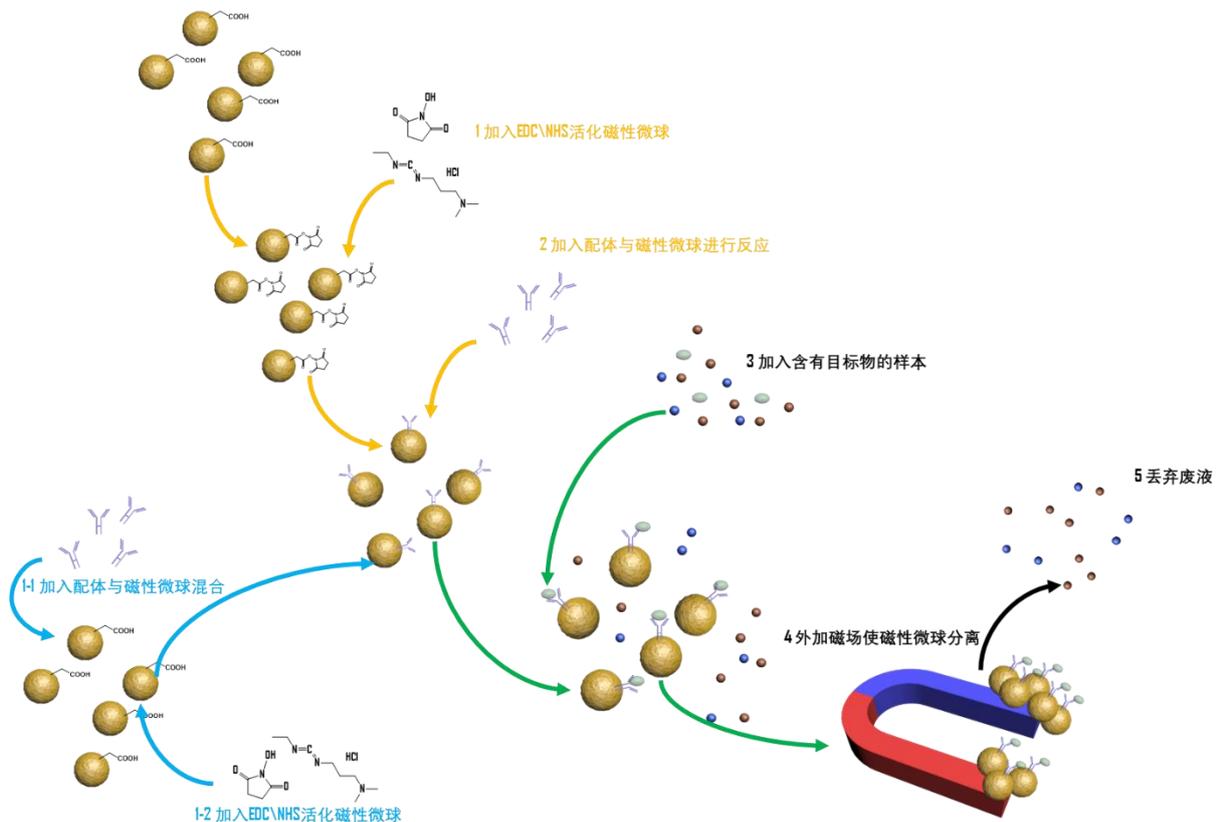


图 5. 羧基磁性微球偶联配体并捕获分离目标物的示意图。(蓝色箭头指示一步法路线、黄色箭头指示二步法路线, 绿色箭头为相同步骤)

## 订购信息

产品	固含量	规格	货号
MagnoMind 磁性微球	100mg/mL	5mL	MM101-5M
1.0 微米磁性微球、亲水表面、羧基修饰		100mL	MM101-100M
MagnoMind 磁性微球	100mg/mL	5mL	MM201-5M
2.0 微米磁性微球、亲水表面、羧基修饰		100mL	MM201-100M
MagnoSpeed 磁性微球	100mg/mL	5mL	MS031-5M
0.3 微米高速磁性微球、亲水表面、羧基修饰		100mL	MS031-100M
MagnoMind 磁性微球	100mg/mL	5mL	MS051-5M
0.5 微米高速磁性微球、亲水表面、羧基修饰		100mL	MS051-100M

## 更多信息

请联系我们: +86-18662409808

或者请访问: [www.mnanotech.com](http://www.mnanotech.com) 或 微信公众平台

These products are for research use only and not intended for therapeutic or in vivo diagnostic use. © 2018, Shanghai Micro Macro Technology Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Shanghai Micro Macro Technology Inc unless otherwise specified.

