

Magnosphere™ MS300/Streptavidin

Magnosphere™ MS300/Streptavidin は表面にストレプトアビジンが固定化された親水性表面の磁性粒子です。粒子表面へのタンパク質・核酸等の非特異吸着が低く抑えられているため、サンプル中からビオチン標識された分子を特異的に高純度で回収することが出来ます。

粒子表面は、酵素反応を阻害しない親水性ポリマーでコーティングされているため、例えば、粒子を PCR 反応液に添加しても核酸増幅に影響を与えず、**Magnosphere™ MS300/Streptavidin** 存在下でも定量 PCR が可能です。また酵素免疫測定においても、ビオチン化一次抗体の結合用担体として使用可能です。

Magnosphere™ は均一な粒子径を持ち、超常磁性を示しますので、磁気分離や再分散のハンドリングが非常に容易です。

<特徴>

- ビオチン化分子(タンパク質、核酸)への高い親和性
- 均一粒子径
- 超常磁性
- 高速な磁気応答性
- 低非特異吸着

<用途例>

定量 PCR、イムノアッセイ、ビオチン化分子(タンパク質、核酸)の固定化

<製品仕様>

内容量	2 mL
固形分濃度	1 % (10 mg/mL、約 6×10^8 beads/mL)
分散媒	TBS + 0.09% Na ₂ S ₂ O ₃ + 0.05% Tween20 ・TBS: Tris buffered saline; 50mM Tris-HCl, pH7.6 / 0.15M NaCl
粒子径	3 μm
磁性体含量	約 20 重量%
ビオチン結合量	400-600 pmol Biotin/mg beads
使用期限	製品ラベルに表示

<保存方法>

冷蔵保存(2~8℃)。凍らせないでください。使用前によく分散してお使い下さい。

<廃棄>

アジ化ナトリウム(Na₂N₃)は、金属と反応して爆発性の高い金属アジドを生成することがあります。廃棄の際は大量の水とともに洗い流してください。

<推奨プロトコル>

【プロトコル I】ビオチン標識 DNA の固定化

必要な試薬・器具

Binding Buffer (2X): 20 mM Tris-HCl (pH 7.4) with 1 mM EDTA, 2 M NaCl, 0.1 % Tween20
Equipment: Magnetic separator. Vortex tube mixer. Tube rotator.

1. **Magnosphere™ MS300/Streptavidin** を Vortex ミキサーでよく分散後、100μL の粒子分散液をマイクロチューブに取る(粒子 1 mg 相当)。
2. マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除去する。
3. 1X Binding Buffer 200μL をマイクロチューブに加え、Vortex ミキサーで分散させた後、マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除去する。
4. ビオチン化 DNA (5μg) の溶液と等量の 2x Binding Buffer を混合後、3. のチューブに添加し、Vortex ミキサー等で粒子を分散する。
5. 10 分間、室温下でマイクロチューブをチューブローターで混和する。
6. マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除去する。
7. 1x Binding Buffer を 200μL 加え、Vortex ミキサーを用いて粒子を洗浄する。
8. マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除去する。
9. 操作 7., 8. の工程を合計 3 回繰り返した後、マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除去する。
10. 以降の実験に適した Buffer を加え、Vortex ミキサーで粒子を分散する。分散液は 2~8℃で保存する。

【プロトコル II】抗体のビオチン標識

Biotin-NHS を使うことで、抗体を簡便にビオチン化することが出来ます。Biotin-NHS; Biotin N-hydroxysuccinimide ester は、一級アミノ基反応性のビオチン化試薬です。抗体との混合比 ([Biotin-NHS]/[Ab]) によって、抗体のビオチン化度をコントロールすることが出来ます。通常、[Biotin-NHS]/[Ab]=5~20 で反応することで、効果的なビオチン化が可能です。ビオチン化度が高すぎる場合、粒子と混合した際に、粒子が凝集する場合があります。

反応のスケールは、処理したい抗体の量に応じて、下記の例から比例計算で調整して下さい。

必要な試薬・器具

抗体: BSA やゼラチンなどの安定化剤、および Tris などのアミノ基を含んだ緩衝溶液を使用していない抗体をご準備下さい。

Biotin-NHS: 5.69 mg の Biotin-NHS を 1 mL の DMSO に溶解する。使用直前に溶解下さい。

装置: 遠心器と遠心タイプの限外ろ過フィルター(MWCO=10k)

1. マイクロチューブに 0.4 mL の抗体溶液 (5.0 mg/mL, 2 mg 分の抗体)を取る。
2. Biotin-NHS 溶液を 4 μL ([Biotin-NHS]/[Ab]=5 のとき)、または 8 μL ([Biotin-NHS]/[Ab]=10 のとき)加える。
3. 室温で3時間静置する。

未反応のビオチンを限外ろ過フィルターを用いて除く。

【プロトコル III】粒子へのビオチン標識抗体の結合

必要な試薬・器具

Washing Buffer: PBS + 0.05% Tween20

装置: マイクロチューブ用磁気分離スタンド(磁気スタンド)、Vortex ミキサー、マイクロチューブシェーカー

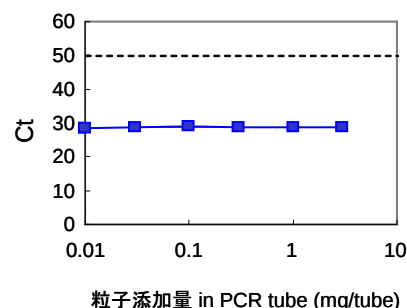
1. **Magnosphere™ MS300/Streptavidin** を Vortex ミキサーでよく分散後、100 μL の粒子分散液をマイクロチューブに取る(粒子 1 mg 相当)。
2. 10 μg のビオチン標識抗体を含む溶液(抗体濃度が 1 mg/mL の場合 10 μL)を加え、Vortex ミキサーで分散する。

3. 30 分間、室温下でマイクロチューブをチューブシェーカーで振盪する。
4. マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除去する。
5. 1mL の Washing Buffer を加え、Vortex ミキサーを用いて粒子を洗浄する。
6. 操作 4., 5. の工程をもう一度繰り返した後、マイクロチューブを磁気スタンドに約 1 分間セットし、上清を除去する。
7. 以降の実験に適した Buffer をマイクロチューブに加え、Vortex ミキサーで粒子を分散する。分散液は 2~8℃で保存する。

<使用例>

【使用例 1】*Magnosphere™ MS300/Streptavidin* の PCR への影響

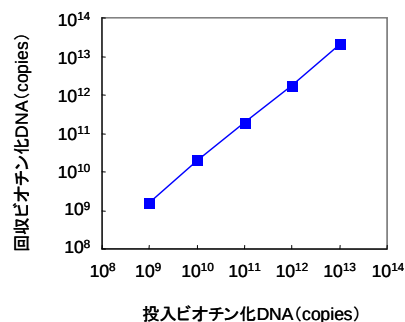
濃度既知の 100 bp DNA テンプレートに *Magnosphere™ MS300/Streptavidin* を各種濃度で添加して定量 PCR を行った。得られた Threshold Cycle (Ct) を粒子の添加量に対してプロットした。



結果、*Magnosphere™ MS300/Streptavidin* は、PCR チューブに 3mg まで添加しても PCR 阻害を起こさず、Ct 値は一定であった。

【使用例 2】ビオチン化 dsDNA の回収

プロトコル I に従って、各種濃度のビオチン化 100 bp dsDNA を *Magnosphere™ MS300/Streptavidin* と反応して固定した。得られた粒子を定量 PCR のテンプレートに用い、固定化したビオチン化 dsDNA 量を求めた。



結果、*Magnosphere™ MS300/Streptavidin* は、20 pmol (i.e., 10¹³ コピー)/mg までの範囲で dsDNA を定量的に回収することが出来た。

<注意>

- 本製品は研究用試薬ですので、研究用以外の目的にはご使用にならないください。
- 製品の仕様等は予告なく変更されることがあります。
- 製品の使用に当たっては、用途に対する法規制、および用途への適合性、安全性等を試験・確認ください。

<お問い合わせ窓口>

株式会社医学生物学研究所 営業本部 診断薬原料部

E-mail: IVDMaterial@mbl.co.jp

URL: <https://www.mbl.co.jp/>