

## 传感器芯片 SAD

### 使用说明

#### 产品描述

产品货号：

CR1023（三个传感器芯片的封装）

CR1021（一个传感器芯片的封装）

储存：芯片位于未开封袋子，2°C 至 8°C 储存，在建议日期前使用。



传感器芯片固定在芯片内衬上，整体可插入聚苯乙烯外壳里。每个芯片盒由一个传感器芯片（含内衬）以及外壳组成，在氮气中单独包装于密封袋。

**注：**仅供体外实验使用。

## 应用领域

传感器芯片 SAD 设计用于使用 S 型传感芯片的 Biacore SPR 分子互作分析系统, 结合生物素标记的分子。SAD 芯片金膜表面的涂层上共价偶联了羧甲基葡聚糖基质, 并预偶联了链霉亲和素, 可快速、超高亲和力捕获生物素标记的配体, 比如多肽, 蛋白, 核酸。

SAD 芯片为难以偶联或共价偶联后失活的配体提供了方便的替代方式。此外, 控制的生物素化可以定向捕获。

## 生物素化配体的制备

使用 SAD 芯片进行捕获时, 建议每个配体分子一个生物素的取代水平 (或更低)。通常, 商品化的生物素化试剂流程会得到更高的取代水平。当使用 NHS-biotin 试剂做配体生物素化时, 每 mole 配体所需生物素化试剂浓度降低至 1 mole 以下。

为避免 SAD 芯片上的结合位点被多余的生物素化试剂竞争结合, 必需将过量的生物素化试剂除去。可使用体积排阻色谱 (体积小于 120 $\mu$ L 建议使用 micro-spin column 最小化稀释) 将生物素化配体与多余的试剂分离。建议分离两次确保在配体制备中没有残留游离的试剂。

## 固化配体准备工作

下面的步骤需要使用经 0.22  $\mu$ m 过滤的运行缓冲液, 如果系统没有脱气装置, 需要脱气。

### 清洁流路系统

确保 SAD 芯片 dock 前流路系统的清洁, 尤其是做过其它生物素标记分子的实验后。按照以下步骤执行流路的清洁。

**注意:** 任何清洁步骤需要在 SAD 芯片 dock 前执行。

- 1, 执行维护程序 Desorb。
- 2, 如果同时运行了 Sanitize 程序, 需要使用运行缓冲液冲洗管路。

**注意:** SAD 芯片表面对次氯酸钠残留敏感。

**注意:** 在此阶段, 不要将纯水当作运行缓冲液使用。

### 传感芯片, 操作步骤

1, 如果您在潮湿的环境中工作, 请让密封的传感器芯片袋在室温下平衡 15-30 分钟, 以防止芯片表面产生冷凝水。

2, 准备 SPR 仪器与运行缓冲器。缓冲液需要过滤 (0.22 $\mu$ m) 并脱气。

3, 打开传感器芯片袋。确保传感器芯片内衬始终完全插入外壳, 以保护芯片免受灰尘颗粒影响。

4, 按照仪器说明书, 将传感器芯片 dock 入仪器中。

注: 未 dock 入仪器中的传感器芯片应存放在封闭的容器中。

## 固化配体

生物素化配体通过非共价超高亲和力捕获 (结合链霉亲和素) 的方式固化在 SAD 芯片上。

### 通用建议

如果可能, 使用含去垢剂的运行缓冲液完成固化, 建议使用 HBS-ET, HBS-T。

固化配体前, 使用 3 次连续进样 1M NaCl、50mM NaOH 溶液进行芯片表面预处理。确保同时对活性表面和参比表面进行预处理。

建议在每次配体进样后, 加一步 50%异丙醇、1M NaCl、50mM NaOH 溶液的 Wash 步骤。此溶液不流过芯片表面。通过混合等体积异丙醇与 2M NaCl、100mM NaOH 配制 Wash 溶液, 在一周内使用。

**注意:** 对于有连续流动池 (Fc) 的系统, 注意避免一个 Fc 的配体固化对下一个 Fc 的影响。为了更好的性能, 单独固化每一个 Fc, 例如从 Fc4 开始, 然后 Fc3, Fc2, Fc1。

### 固化

进样生物素化的配体。配体浓度可能低至 pM 范围。配体通常快速结合链霉亲和素, 在较短的进样时间就达到结合平衡, 通常 1 分钟。控制配体固化水平需要短的进样时间, 调节配体的浓度。使用低流速减少配体的消耗。对于 PCR 产物, 加入 0.5M 或更高浓度的 NaCl 在配体缓冲液中, 使用更长的进样时间, 通常可达 30 分钟。

## 相互作用分析

相互作用分析通过传感芯片表面的样品注射实现。

进样样品中的分析物分子, 直接与超高亲和捕获的配体结合。

## 实验运行条件

### 运行缓冲液

SAD 芯片适配所有 Biacore SPR 分子互作分析系统的运行缓冲液。

### 分析温度

SAD 传感芯片建议在 25°C 使用。

### 热身循环

为了最佳的实验性能，使用样品或缓冲液运行 1-3 个热身循环，样品与进样设置与分析循环相同。

### 再生

超高亲和捕获的配体的再生通过结合的分析物的去除实现。再生条件需要仔细筛选，既需要让分析物完全解离，又要不影响配体的结合活性。SAD 芯片表面可以耐受多种试剂，更多信息可参考化学耐受章节。再生流程的选择可能会受限于配体的稳定性。

如果可能，避免使用碱性再生试剂。在某些情况下，碱性环境可能导致生物素化配体从芯片表面脱落，污染下游流动池。

### 化学耐受

SAD 芯片表面可以耐受多种常见试剂的 1 分钟短暂进样。

试剂	浓度
乙腈	30%
DMSO	10%
DTT/DTE	0.1 M
EDTA	0.35 M
乙醇	70%
乙醇胺	1 M
乙二醇	100%
甲酰胺	40%
甲酸	20%
甘氨酸-盐酸 pH1.5 到 3.0	100 mM
甘氨酸-氢氧化钠 pH9.5 (除盐试剂 2)	50 mM
盐酸胍	6 M
盐酸	100 mM
咪唑	300 mM
氯化镁	4 M
氢氧化钠	100 mM
氯化钠	5 M
SDS (除盐试剂 1)	0.5%
吐温 20	5%

尿素	8 M

注 英文版为字母顺序排列，中文版因有些试剂英文简写更常用，有些两可，确定后再决定排列方式。

Polariton-Li