

传感器芯片 SAD

使用说明

产品说明

- 产品货号：CR1021（包含一个传感器芯片）
- 储存条件：芯片密闭包装，储存于 2°C 至 8°C，在建议日期前使用
- 湿法保存：于金膜面滴 buffer 保存，建议一般不超过 10 天



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 专用于结合生物素化分子，设计用于使用 S 型传感芯片的 Biacore SPR 分子互作分析系统，如 1K, 1K+, 1S+, 8K, 8K+, T200, S200。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。受控生物素化可实现定向捕获。

制备生物素化配体

建议每个配体分子使用一个或更少的生物素残基进行取代。使用 SAD 芯片进行捕获时，一般商品化的生物素化试剂提供的程序往往会得到更高的取代水平。使用 NHS-biotin 试剂做配体生物素化，应将每 mole 配体所需生物素化试剂浓度降低至 1 mole 以下。

在捕获配体前，必须从配体制备过程中去除过量的生物素化试剂，以避免多余的生物素化试剂与 SAD 芯片上的结合位点竞争结合。使用尺寸排阻色谱等方法将生物素化配体从过量试剂中分离出来（体积低于 120 μ L 时建议使用微旋色谱柱，以尽量减少稀释）。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

以下步骤要求使用经 0.22 μ m 过滤的运行缓冲液，如系统无脱气装置，需要脱气处理。

清洁流路系统

在装载 SAD 芯片之前，尤其是在使用其他生物素化分子进行实验之后，请确保流动系统是清洁的。请按照以下步骤

注意：任何清洁步骤需要在 SAD 芯片对接前执行。

- 1、运行维护程序 Desorb。
- 2、如果同时运行了 Sanitize 程序，需要使用运行缓冲液冲洗所有缓冲液入口。

注意：SAD 芯片表面对次氯酸钠残留物敏感。

注意：在此阶段，请勿将纯水当作运行缓冲液使用。

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 仪器与运行缓冲液，缓冲液需要过滤（0.22 μ 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，将传感器芯片装载(load)入仪器中。

注：未装载入仪器中的传感器芯片应存放在封闭的容器中。

固定配体

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 SAD 芯片上。

通用建议

- a) 如果可能, 在用于固定的运行缓冲液中加入表面活性剂, 推荐使用 HBS-ET, HBS-T。

SAD 芯片装载 (load) 后, 固化配体前, 采用 50mM NaOH+1M NaCl 进行双通道 condition, 采用流速 30 μ L/min 进行 4 次, 每次 60s, 以激活芯片表面, 确保在活性表面和参比表面都进行预处理。

- b) 每次注入配体后, 将 50%异丙醇溶于 1M NaCl 和 50mM NaOH 进行清洗针, 此溶液不流过芯片表面。用等体积异丙醇和 2 M NaCl 在 100 mM NaOH 中混合配制洗涤液, 一周内用完, Biacore 4000 SPR 系统不需要此清洗液。

注意: 在使用串联流动池 (FC) 的系统中, 为获得最佳性能, 请对每个流动池进行单独固定, 必须避免生物素化配体从一个流动池转移到连续的流动池。从 FC4 开始, 然后是 FC3、FC2 和 FC1。

固定

注入生物素化配体, 配体浓度可能低至 pM 范围。配体通常会迅速与链霉亲和素结合, 只需很短的接触时间 (通常为 1 分钟) 即可达到平衡结合。要控制需要短接触时间的配体的固定水平, 可调整配体浓度。使用低流速以减少配体的消耗。对于 PCR 产物, 可在配体缓冲液中加入 0.5 M 或更高浓度的氯化钠, 并延长接触时间, 一般可长达 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。

进样样品种中的分析物分子会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

为获得最佳的实验性能，请使用样品或缓冲液作为分析物运行 1-3 个热身循环，样品与进样设置与分析循环相同。

再生

从捕获的配体中去除分析物，使表面超高亲和捕获的配体再生。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再生流程的选择可能会受限于配体的稳定性。

尽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，导致下游流动池受到污染。

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 (Desorb 2 溶液)	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 (Desorb 1 溶液)	0.5%
吐温 20	5%
尿素	8 M