

ProteinA/G 磁珠

货号: PMK2031

保存: 保存于 4℃, 保质期 36 个月

规格: 1ml/5ml/10ml/50ml/100ml

产品简介:

本产品采用全新纳米表面偶联生物技术, 将 Protein A 高密度共价偶联在超顺磁性微球表面, Protein A 主要通过免疫球蛋白 (Ig) 的 Fc 区相互作用, 可结合大多数哺乳动物的 IgG, 是纯化大多数免疫球蛋白的理想工具。与传统的 Protein A 免疫沉淀琼脂糖凝胶相比, Protein A 磁珠具有更大的特异性表面区域及更多的表面抗体结合位点, 非特异性结合低, 并且每次 IP 和 Co-IP 可以节省 40% 的时间, 使用起来简便高效。Protein A/G 免疫沉淀磁珠适用的样品范围广泛, 细胞裂解液、细胞分泌液上清、血清、动物腹水以及其它的免疫抗原等均适用本产品。

产品组成:

产品编号	名称	规格
PMK2031-1	ProteinA/G 磁珠磁珠 (1um)	1ml/5ml/10ml/50ml/100ml
PMK2031-1.5	ProteinA/G 磁珠磁珠 (1.5um)	1ml/5ml/10ml/50ml/100ml
PMK2031-3	ProteinA/G 磁珠磁珠 (3um)	1ml/5ml/10ml/50ml/100ml

产品参数:

项目	参数
磁珠粒径	1um
磁珠浓度	20 mg/mL
结合能力	≥0.9 mg human IgG/mL of bead
应用范围	IP, Co-IP, ChIP, RIP 等

推荐缓冲液:

结合/洗涤缓冲液	PBST : 1× PBS + 0.5% Tween-20, pH 7.4
洗脱缓冲液	0.15 M Glycine, pH 2.5-3.1

操作步骤:

1. 抗原样品制备

(请根据不同的样品选择合适的处理方法) 样品

样品	样品处理
血清	若目标蛋白丰度较高，建议稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 10-100 $\mu\text{g/mL}$ ，置于冰上备用 (或置于 -20°C 长期保存)。
悬浮细胞	离心收集细胞 (4°C , 500 g, 10 mins)，弃上清后称重，按照每毫克细胞 50 μL 的比例用 $1\times\text{PBS}$ (pH 7.4) 洗涤 2 次；按照每毫克细胞 5-10 μL 的比例加入细胞裂解缓冲液，同时加入蛋白酶抑制剂，混匀后置于冰上处理 10 mins；离心 (4°C , 14000 g, 10 mins)，收集上清液，置于冰上备用 (或置于 -20°C 长期保存)。
贴壁细胞	移去培养基，按照每 1×10^5 的细胞 150 μL 的比例用 $1\times\text{PBS}$ (pH 7.4) 洗涤 2 次；用细胞刮棒刮脱细胞，收集至 1.5 mL EP 管内，按照每 1×10^5 的细胞 20-30 μL 的比例加入细胞裂解缓冲液，同时加入蛋白酶抑制剂，混匀后置于冰上处理 10 mins；离心 (4°C , 14000 g, 10 mins)，收集上清液，置于冰上备用 (或置于 -20°C 长期保存)。
大肠杆菌	离心大肠杆菌 (4°C , 12000 g, 2 mins)，弃上清后称重，按每克 (湿重) 菌体 10 mL 的比例用 $1\times\text{PBS}$ (pH 7.4) 洗涤 2 次；按每克 (湿重) 菌体 5-10 mL 的比例加入细胞裂解缓冲液 (RIPA 细胞裂解缓冲液)，同时加入蛋白酶抑制剂，重悬菌体，超声裂解细胞，离心 (4°C , 17000 g, 10 mins)，收集上清液，置于冰上备用 (或置于 -20°C 长期保存)。

2. 磁珠预处理

将磁珠充分混悬，取 25-50 μL 磁珠，置于 1.5 mL EP 管中，加入 400 μL 结合/洗涤缓冲液，充分混悬，置于磁力架，磁性分离，弃上清；重复以上洗涤步骤 2 次。

3. 抗体与磁珠结合

(1) 抗体预处理：使用结合/洗涤缓冲液将抗体稀释至终浓度为 5-50 $\mu\text{g/mL}$ 。

(2) 抗体-磁珠结合：将稀释好的 400 μL 抗体加入步骤 2 处理好的磁珠中，充分混悬，置于翻转混合仪孵育 (室温，30 mins； 4°C ，2 hours)，磁性分离，收集磁珠，上清液收集于新的 EP 管中，以备后续使用。

(3) 洗涤：加入 400 μL 结合/洗涤缓冲液，充分混悬磁珠，磁性分离，弃上清；重复洗涤 4 次。

注：结合过程中，磁珠可能会出现聚团或呈片状，属于正常现象，不会影响实验结果。

4. 抗原与抗体-磁珠复合物结合

(1) 抗原-抗体-磁珠复合物结合：加入 400 μL 步骤 1 准备的抗原样品，充分混悬，置于翻转混合仪孵育 (室温，30 mins； 4°C ，2 hours)，磁性分离，弃上清。

(2) 洗涤：使用 400 μL 结合/洗涤缓冲液充分重悬磁珠，磁性分离，弃上清；重复洗涤 4 次。

5. 抗原洗脱

本说明书提供以下两种抗原洗脱方案，操作者可根据后期检测的需要选择不同的抗原洗脱方法。

a. 变性洗脱法：此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。

步骤：分离磁珠，弃上清，向磁珠中加入 25-50 μL $1\times\text{SDS-PAGE}$ Loading Buffer 混合均匀， 95°C 加热 5 mins。分离磁珠，收集上清，进行 SDS-PAGE 检测。

b. 非变性洗脱法：此方法洗脱的样品保持原有的生物活性，可用于后期功能分析。

产品说明书

步骤：分离磁珠，弃上清，向磁珠中加入 25-50 μ L 洗脱缓冲液，室温孵育 10 mins；分离磁珠，收集上清至新的 EP 管，并立即滴入总体积 1/10 体积的中和缓冲液 (0.1 M NaOH)，将洗脱产物 pH 调节至中性，样品用于后期功能分析。

注：本步骤洗脱的抗原为抗原-抗体复合物，如操作者需要单独洗脱目标抗原，推荐使用交联剂，并按相关实验说明操作。

注意事项：

1. 本产品 pH 值为 6-8，禁止冻结。
2. 本产品应避免离心、干燥或冻存，禁止长时间置于磁场，可能会引起磁珠聚团，抗体结合后操作过程应轻柔，避免抗体脱落。
3. 使用前请先通过查阅附录确认抗体所属亚型与 Protein A/G 的亲合度，如亲合度不佳，可以通过增加抗体与磁珠的孵育时间 (30-120 mins)、提高结合缓冲液的 pH 值 (8-9) 以及降低离子强度 (25-100 mM NaCl) 等方法提高亲和效率。
4. 为提高磁珠在免疫沉淀反应中的特异性，可以先将抗体与样品进行孵育，形成抗体-抗原复合物，再用 Protein A/G 磁珠捕获复合物。
5. 磁珠在低 pH 的洗脱缓冲液中发生聚集属于正常现象。在结合/洗涤缓冲液和洗脱缓冲液中添加终浓度为 0.1 % (v/v) 的非离子型去垢剂 (如 NP-40、Tween-20 或 Triton X-100) 可有效防止磁珠聚集。经过低 pH 洗脱操作的磁珠可以用结合/洗涤缓冲液洗涤至中性，然后用含有 0.1 % (v/v) Tween-20 的 Tris Buffer (pH 7.5) 振荡重悬磁珠，并用超声波水浴处理 2 mins，即可使磁珠恢复均匀状态，以上处理均不影响磁珠的抗体结合效率。
6. 超声处理会使磁珠在样品溶液中捕获的抗体脱落，所以磁珠在捕获抗体后不宜使用该方法重悬磁珠。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

PMK20303 羧基磁珠

PMK2030 链霉亲和素 (SA) 磁珠

PMK2032 NHS 磁珠



更多产品详情了解，请关注公众号：