

rProtein A/G Plus MagPoly Beads

货号: RM09008

规格: 0.5ml/1.5ml

◆ 产品描述

rProtein A/G Plus MagPoly Beads 是将 rProtein A/G Plus 高密度定向包被到超顺磁性聚合物微球表面, 该产品具有更高的抗体结合能力和较低的蛋白非特异吸附率, 一步纯化即可从血清样品中分离出纯度大于 90% 的抗体。本产品可重复利用, 适用于血浆、腹水、组织培养上清液等样品中的抗体纯化, 也可用于抗体固定及其他相关研究。

◆ 产品性能

指标	性能
基质	聚合物磁性微球
配体	重组蛋白 A/G Plus
浓度	10mg/ml
外观	棕色至黑色微球
结合能力 (/mg 磁珠)	> 8 μ g hIgG
粒径	1 μ m
储存缓冲液	PBS, 0.01% Tween-20, 0.02% NaN ₃
储存温度	2°C-8°C
储存时间	24 months

◆ 操作流程

本操作主要为免疫沉淀反应, 每次反应使用 50 μ l rProtein A/G Plus MagPoly Beads, 可根据需要适当的增加或减少磁珠使用量。

1、Buffer 的准备

Buffer	成分
结合/洗杂液	20mM Na ₂ HPO ₄ , 0.15 M NaCl, pH7.0
封闭液	3% BSA
洗脱液	0.1M glycine, pH2-3
中和液	1M Tris, pH8.5
终止液	50mM Tris, pH7.5

2、磁珠准备

- 1) 将 rProtein A/G Plus MaqPoly Beads 颠倒或漩涡混匀，翻转瓶身发现底部无黑色沉淀即可。
- 2) 取 50 μ l rProtein A/G Plus MaqPoly Beads 至新的 EP 管中，放在磁分离器上，待溶液澄清后，用移液器吸弃保护液。
- 3) 将 EP 管从磁分离器上取下来，加入 200 μ l 结合/洗杂液，混匀，放置在磁分离器上，收集磁珠，用移液器吸弃结合/洗杂液。重复 2 次。
- 4) 将 EP 管从磁分离器上取下来，加入 1mL 的 3% BSA，置于翻转混合仪 4 $^{\circ}$ C 封闭 1h。
- 5) 重复步骤 3)，备用。

3、磁珠、抗原-抗体复合物结合

- 1) 将含有抗原的样品（通常 300 μ l-1000 μ l，抗原量 200 μ g）中加入目标抗体（通常 3 μ g），置于翻转混合仪 4 $^{\circ}$ C 下反应 2h 或过夜。
- 2) 将上述完成抗体-抗原结合的复合物与备用好的磁珠进行混合，置于 4 $^{\circ}$ C 下反应 2h 或过夜。
- 3) 将上述磁珠-抗体-抗原复合物放在磁分离器上进行分离，收集上清液，以备后续检测。
- 4) 向离心管中加入 1ml 洗杂液，用移液器轻轻吹打使磁珠-抗体-抗原复合物均匀分散，然后进行磁性分离，弃上清液；从磁分离器上取下离心管，重复洗涤两次。

4、抗原洗脱

A、变性洗脱

此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。

- 1) 从磁分离器上取下离心管，向其中加入 30 μ l 2X SDS-PAGE Loading Buffer 混合均匀，95 $^{\circ}$ C 加热 15min。
- 2) 置于磁性分离器上进行磁性分离，收集上清液进行 SDS-PAGE 检测。

B、非变性洗脱

- 1) 向磁珠-抗体-抗原复合物中加入 50 μ l 洗脱液，混合均匀，室温孵育 5min。
- 2) 置于磁性分离器上进行磁性分离，收集洗脱液至新的 EP 管中。
- 3) 重复步骤 1) 和 2)，收集洗脱液，与 2) 中洗脱液混合，加入中和液中和至 pH7.0-8.0。用于后期功能分析。

◆ 应用范围

IP、Co-IP 和 CHIP 实验

免疫沉淀用于非还原条件下的分析

抗体纯化