

Protein A/G Magbeads产品说明书

Cat# : MAG001 / MAG002 / MAG003

Size : 0.5ml / 2ml / 10ml

▶▶产品介绍:

Protein A/G Magbeads是Protein A/G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，一步富集纯化即可从样品中富集分离出纯度大于 90%的抗体，主要用于IP与ChIP实验。

▶▶产品性能:

Magbeads粒径：1 μm（聚合物磁性微球）

储存液：20 mM Tris PH 7.4, 0.01%Tw20 (v/v) , 0.05%kv300 (v/v)

结合能力：> 50 μg Rabbit IgG/mg 磁珠

磁珠浓度：10mg/ml

配体：重组蛋白 A/G

用量：25-50ul混和液/样本

储存条件：2-8℃保存2年，切勿冰冻

▶▶免疫沉淀操作流程

1) 磁珠使用量建议:

针对各种标准培养皿的裂解缓冲液的推荐使用体积:

培养皿大小/表面积	免疫沉淀裂解缓冲液体积
100×100 mm	500-1000 μl
100×60 mm	250-500 μl
6 孔板	200-400 μl/孔
24 孔板	100-200 μl/孔

2) 磁珠准备:

a 将Protein A/G Magbeads颠倒或漩涡混合均匀。

b 取50 μl Protein A/G Magbeads加入新的离心管中。放置在磁分离器上，待溶液变澄清后，用移液器吸弃保护液。

c 将离心管从磁分离器上取下来，加入 200 μl平衡液，混匀，放置在磁分离器上，收集磁珠，用移液器吸弃保护液。重复洗 2 次。

3) 抗体吸附:

a 加入抗体溶液（5-25 μg 抗体总量），充分混匀，体积不足 500 μl 时用平衡液补足。

b 室温孵育 10 min 以上（具体时间根据结合效果调整），可以振荡或漩涡混合均匀。

c 将离心管置于磁分离器上，待磁珠全部吸附后，吸弃上清液。如需要可留做进一步检测。

d 加入 500 μl 洗杂液混合均匀，置于磁分离器上，待磁珠全部吸附后，吸弃上清液。重复洗杂至少 3 次。

4) 抗原结合反应:

- a 加入含有抗原的细胞裂解样品 (通常100-1000 μ l), 用移液器轻轻吹打使抗原与磁珠-抗体复合物均匀分散。
- b 在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管 10 min, 使抗原与抗体充分结合, 如结合力较弱则可在室温下反应 1 h 或者在4°C下反应过夜。
- c 上述完成抗原吸附的磁珠-抗体-抗原复合物进行磁性分离, 收集上清液, 以备后续检测。
- d 向离心管中加入1 ml 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, 再重复洗涤两次。

5) 性洗脱 -此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。

- a 从磁分离器上取下离心管, 向其中加入25 μ l 1 \times SDS-PAGE Loading Buffer 混合均匀, 95°C加热 10 min。
- b 置于磁性分离器上, 进行磁性分离, 或者离心, 收集上清液进行 SDS-PAGE 检测。

免疫沉淀常见问题分析与解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
样本结合不完全	蛋白量超过Magbeads载量	减少上样体积或增加磁珠体积。
	结合时间太短	延长样品和磁珠的结合时间。
	标签包裹未充分暴露	可以加入低浓度的变性剂, 上样前透析。
	溶液中试剂不兼容	样品上样前进行脱盐处理。
未检测到目的蛋白	目的蛋白不稳定	使用新配制的样品。 低温操作。 细胞裂解液中加入蛋白酶抑制剂。
	样品中无标签融合蛋白	纯化前 Western 检测是否有 flag 标签融合蛋白。
	目的蛋白表达量太低	优化蛋白表达量。增加上样量。 减少 NaCl 浓度。
非特异性杂带过多	非特异性吸附	减少上样量, 减少孵育时间。
	洗杂不充分	增加洗杂次数, 或增加洗杂液中盐离子浓度。

For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic applications.