

Goat Anti-Rabbit IgG Magnetic Beads

产品包装:

产品编号	产品名称	包装规格 (10 mg/ml)
HAK21015-2ml	Goat Anti-Rabbit IgG Magnetic Beads	2 ml
HAK21015-10ml	Goat Anti-Rabbit IgG Magnetic Beads	10 ml

产品描述:

Goat Anti-Rabbit IgG 磁珠来源于高品质山羊抗兔 IgG 纯化抗体, 与直径为 2 μ m 的聚合物磁珠共价偶联。本产品可用于兔 IgG 的免疫沉淀 (IP) 和兔 IgG 纯化, 在特定场景中可作为 Protein A 磁珠的替代方案。

产品性能:

产品形式: Goat Anti-Rabbit IgG 磁珠保存在 PBS, pH7.4 添加防腐剂的缓冲液中, 以 10mg/ml 的悬浮液形式提供。

保存条件:

Goat Anti-Rabbit IgG 磁珠采用蓝冰运输。建议在 2-8 $^{\circ}$ C 下储存, 可稳定保存 2 年。请勿 -20 $^{\circ}$ C 保存。

注意事项和免责声明:

本产品仅限于科学研究使用, 不得用于临床诊断或治疗。

使用说明:

一、样品制备

- 建议将蛋白裂解液控制在 pH6-8, NaCl 或 KCl 浓度 \geq 0.15M 可获得较好的实验效果。
- 蛋白裂解液需要离心 (10000 \times g, 15min) 才能去除干扰蛋白质结合的细胞碎片和微粒。如想获得更好的实验效果, 蛋白裂解液还可通过 0.45 μ m 或 0.22 μ m 滤器过滤。

二、免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)

对于 IP 反应, 建议每个反应 (1 \times 10⁶ 细胞 或 500 μ L 裂解液) 使用 20-30 μ L 的磁珠。

- 轻轻重悬磁珠, 取出适当的体积到合适的离心管中。置于磁力架上分离 10 秒, 去除上清。
- 用 10 倍凝胶悬浮液体积的 TBST 清洗亲和凝胶, 置于磁力架上分离 10 秒, 弃上清, 重复该步骤三次。
- 将 500 μ L 处理好的细胞裂解液添加到洗涤过的磁珠中。(可根据样品中目的蛋白丰度来调整裂解液的体积)。对于阳性对照, 将 500 μ L TBST 和 4 μ L 50 ng/ μ L Rabbit IgG (~200ng) 添加到洗涤过的磁珠中。对于阴性对照, 仅添加 500 μ L 的裂解缓冲液, 不含蛋白质。
- 轻轻摇动 (推荐使用旋转混匀仪) 所有样品和对照 1 小时。为了提高结合效率, 可将结合步骤延长至 4 $^{\circ}$ C 过夜反应。
- 置于磁力架上分离 10 秒以收集磁珠。用移液器吸头 (推荐使用细长的吸头或者 1mL 吸头上套 200 μ L 吸头来使用) 去除上清液 (注意防止吸头沾到磁珠)
- 用 10 倍磁珠悬浮液体积的 TBST 清洗磁珠三次。

三、洗脱:

本产品根据不同的下游应用要求等, 可使用多种洗脱方法, 包括酸性和 SDS-PAGE 上样缓冲液等洗脱液进行洗脱。

- 酸性洗脱法:** 本方法为非变性的, 比较快速且高效。洗脱后的蛋白保持原有的生物活性, 便于后续分析检测。

每 10 μ L 原始凝胶悬浮液, 加入 100 μ L 酸性洗脱液 (0.1M 甘氨酸, pH2-3), 混匀后置于旋转混合仪上, 室温孵育 10 分钟。孵育完毕后, 置于磁力架上分离 10 秒, 将上清转移到新的离心管中, 并立刻加入 10 μ L 中和液 (1M Tris-HCl, pH9.0), 混匀。为了获得最

大的洗脱效率，可重复上述步骤，并将相同样品合并。

洗脱并中和的目的蛋白置于 4°C 待用，或者 -20°C 或 -80°C 长期保存。

注：1) 酸性洗脱法虽然高效，但仍可能低于 SDS-PAGE 上样缓冲液洗脱法。

2) 由于目的蛋白的差异可能对酸性洗脱法的洗脱效率有一定的影响，如果对洗脱效率的要求比较高，可对酸性洗脱液的 pH 在 2.5-3.1 之间进行一定的调整，相应的中和液的 pH 值或量也要进行一定的调整。

2、SDS-PAGE 上样缓冲液洗脱法：本方法为变性法，得到的蛋白样品适合 SDS-PAGE 电泳或 Western Blot 检测。每 20 μ L 原始凝胶磁珠悬液体积，加入 20 μ L 2X SDS-PAGE 上样缓冲液，95°C 加热 5 分钟。置于磁力架上分离 10 秒，取上清进行 SDS-PAGE 电泳或 WB 检测。

注：由于上样缓冲液中 SDS 会破坏 Goat Anti-Rabbit IgG，所以 SDS 煮样洗脱后的磁珠不能重复使用。