Protein A/G-MagPoly

□ 1ml (15-20 immunoprecipitation)

☐ 5ml (75-100 immunoprecipitation)

□ 25ml (375-500 immunoprecipitation)



Orders = 400-6123-828

orders@ab-mart.com

Web www.ab-mart.com.cn

1.产品介绍

rProtein A/G MagPolyBeads 是 rProtein 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,一步纯化即可从血清样品中分离 出纯度大于90%的抗体。产品性能见下表。

性能	指标
基质	聚合物磁性微球
配体	重组蛋白 A/G
结合能力 (/mg 磁珠)	> 50µghIgG
粒径	1µm
磁珠浓度	10mg/ml
储存缓冲液	PBS , 0.01% Tween-20, 0.02% NaN ₃
储存温度	2°C -8°C

2.操作流程

本操作流程主要为免疫沉淀反应,每次反应使用 50 μL rProtein A/G MagPolyBeads, 可根 据需要适当的增加或减少磁珠使用量。

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22μm 或 0.45μm 滤膜过滤。

平衡/ 洗杂液:0.15M NaCl. 20 mM Na2HPO4, pH 7.0

洗脱液:0.1M 甘氨酸, pH 3.0

中和液: 1M Tris-HCl, pH8.5

交联液: 0.2 M 三乙醇胺, pH 8.2

交联剂: DMP (dimetylpimelimidate dihydrochloride)

终止液: 50 mM Tris, pH 7.5

2.2 磁珠准备

1)将 rProtein A/G MagPolyBeads 颠倒或漩涡混合均匀。

2) 取 50 µlrProtein A/G MagPolyBeads 加入新的 EP 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。

3) 将 EP 管从磁分离器上取下来,加入 200µl 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。

2.3 抗体吸附

1)加入 100 µl 平衡液将磁珠悬浮,加入目标抗体溶液,充分混匀。

2) 室温孵育 10min,可以振荡或漩涡混合均匀。

3) 将 EP 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。

4)加入 500µl 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。

2.4 抗体交联 (备选)

1) 如果需要将抗体和目标抗原复合物共同洗脱,请忽略本步骤。

50ul-1ml 磁珠量均可以按照以下步骤操作,无需额外增加交联液体积。

2) 加入 1ml 交联液,振荡悬浮,置于磁分离器上,大约 1min,待溶液变澄清后,吸弃 上清液。该操作重复两次。

3) 再加入 1ml 含有 20 mM DMP (dimetylpimelimidate dihydrochloride) 的交联液, 此试剂需要现用现配。振荡悬浮,在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管, 促使溶液和磁珠充分接触,约30min后,置于磁分离器上,大约1min,待溶液变澄清后,

4) 使用 1ml 终止液悬浮磁珠,终止交联反应,在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转 离心管,促使溶液和磁珠充分接触,约15min后,置于磁分离器上,大约1min,待溶液变 澄清后, 吸弃上清液。

2.6 抗原洗脱

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 25µl 1×SDS-PAGE Loading Buffer

混合均匀, 95℃加热 5min。

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。

1) 向磁珠-抗体-抗原复合物中加入 50 µl 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。

Protein A/G-MagPoly

□ 1ml (15-20 immunoprecipitation)

☐ 5ml (75-100 immunoprecipitation)

□ 25ml (375-500 immunoprecipitation)

Abmart

Orders = 400-6123-828

orders@ab-mart.com

www.ab-mart.com.cn

1.产品介绍

rProtein A/G MagPolyBeads 是 rProtein 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,一步纯化即可从血清样品中分离 出纯度大于90%的抗体。产品性能见下表。

性能	指标
基质	聚合物磁性微球
配体	重组蛋白 A/G
结合能力 (/mg 磁珠)	> 50µghIgG
粒径	1µm
磁珠浓度	10mg/ml
储存缓冲液	PBS , 0.01% Tween-20, 0.02% NaN ₃
储存温度	2°C -8°C

2.操作流程

本操作流程主要为免疫沉淀反应,每次反应使用 50 µL rProtein A/G MagPolyBeads,可根 据需要适当的增加或减少磁珠使用量。

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22μm 或 0.45μm 滤膜过滤。

平衡/ 洗杂液:0.15M NaCl, 20 mM Na2HPO4, pH 7.0

洗脱液:0.1M 甘氨酸, pH 3.0

中和液:1M Tris-HCl, pH8.5 交联液: 0.2 M 三乙醇胺, pH 8.2

交联剂: DMP (dimetylpimelimidate dihydrochloride)

终止液: 50 mM Tris, pH 7.5

2.2 磁珠准备

1)将 rProtein A/G MagPolyBeads 颠倒或漩涡混合均匀。

2) 取 50 μlrProtein A/G MagPolyBeads 加入新的 EP 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。

3) 将 EP 管从磁分离器上取下来,加入 200µl 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。

2.3 抗体吸附

1)加入 100 µl 平衡液将磁珠悬浮,加入目标抗体溶液,充分混匀。

2) 室温孵育 10min,可以振荡或漩涡混合均匀。

3) 将 EP 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。 4)加入 500µl 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。

2.4 抗体交联 (备选)

澄清后 W 五 上 清 液

1) 如果需要将抗体和目标抗原复合物共同洗脱,请忽略本步骤。

50ul-1ml 磁珠量均可以按照以下步骤操作,无需额外增加交联液体积。

2)加入1ml交联液,振荡悬浮,置于磁分离器上,大约1min,待溶液变澄清后,吸弃

3) 再加入 1ml 含有 20 mM DMP (dimetylpimelimidate dihydrochloride) 的交联液 此试剂需要现用现配。振荡悬浮,在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管, 促使溶液和磁珠充分接触,约30min后,置于磁分离器上,大约1min,待溶液变澄清后,

4) 使用 1ml 终止液悬浮磁珠,终止交联反应,在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转 离心管,促使溶液和磁珠充分接触,约15min后,置于磁分离器上,大约1min,待溶液变

2.6 抗原洗脱

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 25µl 1×SDS-PAGE Loading Buffer

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 µl 洗脱液,混合均匀,室温孵育 5 min。

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。