



Protein A 磁珠

产品描述

Protein A 磁珠通常用于将抗体与血清、细胞培养上清或腹水分离, 以及利用免疫沉淀和共同免疫沉淀从细胞或组织提取物中分离抗原的蛋白质。Protein A 磁性珠含有重组蛋白 A, 可以特异性结合小鼠、人类、兔子、猪、狗和猫等多种种属来源的抗体,使其成为研究和净化免疫球蛋白的更通用、更方便的工具。

订购信息

产品名称	货号	规格
Protein A 磁珠	AP62L112	1 mL
Protein A 磁珠	AP62L113	5 mL

运输与保存

常温运输。4°C保存, 有效期 24 个月。

技术参数

粒径	200 nm
浓度	10 mg/mL
结合力	≥ 0.9 mg human IgG/mL of beads
适用范围	IP, CoIP, ChIP, RIP

使用方法

贴壁细胞样品

1. 移去培养基, 用 PBS 洗细胞两次。
2. 收集细胞至 1.5 mL EP 管内, 按比例加入 IP Lysis/Wash Buffer, 同时加入 PMSF 等相应的抑制剂, 混匀后置于冰上静置 5-20 min (期间混匀几次)。
3. 4°C, 12000-16000 g, 10 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 (或置于 -80°C 长期保存)。

表 1. 培养皿 IP Lysis/Wash Buffer 推荐使用体积

培养皿大小/表面积	IP Lysis/Wash Buffer 体积
100 mm x 100 mm	500-1000 μL
100 mm x 60 mm	100-300 μL
6 孔板	100-200 μL

悬浮细胞样品

1. 4°C、500-1000 g、10 min, 收集细胞, 弃上清。
2. 用 PBS 洗细胞一次, 即用 PBS 将细胞团重悬, 4°C、500-1000 g、10 min, 收集细胞, 弃上清。



3. 用预冷的 IP Lysis/Wash Buffer 重悬细胞。每 50 mg 细胞使用 500 μ L IP Lysis/Wash Buffer。同时加入 PMSF 等相应的抑制剂, 混匀后置于冰上静置 5-20 min (期间混匀几次)。
4. 4 $^{\circ}$ C, 12000-16000 g, 10 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 (或置于 -80 $^{\circ}$ C 长期保存)。

血清样品

一般建议用 IP Lysis/Wash Buffer 稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 50~150 μ g/mL, 置于冰上备用 (或置于 -20 $^{\circ}$ C 长期保存)。

免疫复合物的制备

样品所需的量和孵育时间均依赖于每个特定的抗体-抗原体系, 因而可能需要优化才能得到最大产量。

以下实验方案针对 2-10 μ g 亲和纯化的抗体, 根据需要可以按比例放大:

1. 在离心管中, 将每个样品的细胞裂解液与 2-10 μ g 免疫沉淀抗体结合。每个免疫沉淀反应推荐的总蛋白量为 500-1500 μ g。
2. 用 IP Lysis/Wash Buffer 将抗体以及制备好的样品稀释至 300-500 μ L。
3. 在室温下孵育 1-2 h, 或 4 $^{\circ}$ C 过夜, 以形成免疫复合物。

免疫沉淀: 为保证磁珠均匀分布, 使用前通过反复颠倒或轻微涡旋混匀瓶中磁珠。

1. 将 25 μ L (0.25 mg) 的 Protein A Magnetic Beads 加入 1.5 mL 离心管中。
2. 向磁珠中加入 500 μ L 预冷 PBS, 轻柔混匀。
3. 将离心管放入磁力架中收集磁珠到离心管的一边。去除上清。
4. 向离心管中加入 200-500 μ L IP Lysis/Wash Buffer。颠倒离心管数次或轻微涡旋混匀 1min。用磁力架收集磁珠。去除上清。
5. 将抗原样品/抗体混合物加入装有磁珠的离心管中, 保持混匀室温下孵育 1-2 h。
6. 用磁力架收集磁珠, 除去未结合的样品, 保存以备分析。
7. 向离心管中加入 500 μ L IP Lysis/Wash Buffer, 轻柔混匀。收集磁珠, 弃上清。再重复洗两次。
8. 变性洗脱: 向离心管中加入 80-100 μ L SDS-PAGE Sample Loading Buffer (1 \times), 将样品置于 100 $^{\circ}$ C 水浴或者金属浴中加热 10 min。通过磁力架分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。

注: 如需保持蛋白活性, 也可采用以下洗脱方式。

低 pH 洗脱: 向离心管中加入 100 μ L Elution Buffer。保持混匀在室温下孵育离心管 5-10 min。通过磁力分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。每 100 μ L 洗出液中加入 20 μ L Neutralization Buffer 来中和低 pH。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 请勿高速离心、干燥或冷冻磁珠, 这些操作会导致磁珠聚集而降低结合能力。
3. IP 实验中不同类型的抗体与抗原结合的亲和性是有区别的, 抗体与抗原结合还会受到 IP Lysis/Wash Buffer 的影响, 如果使用本实验步骤不能获得最佳的实验结果, 可自行优化操作细节或者筛选及配制缓冲液进行实验, 推荐使用李记生物相关试剂, 详见底部。
4. 磁珠使用前应充分振荡均匀。磁珠应保存在储存溶液中, 防止干燥。



附录：蛋白 A 与不同种类的 Ig, s 及其亚类的结合强度

Species	Antibody Subtype	Protein A	Species	Antibody Subtype	Protein A	Species	Antibody Subtype	Protein A
Human	Total IgG	+++++	Mouse	Total IgG	+++++	Cow	Total IgG	+++
	IgG1, IgG2	+++++		IgM	-		IgG1, IgG2	+++
	IgG3	-		IgG1	+	Goat	Total IgG	+++
	IgG4	+++++		IgG2a, IgG2b	+++		IgG1, IgG2	+++
	IgM	+		IgG3	+++	Sheep	Total IgG	+++++
	IgD	-	Rat	Total IgG	+++		IgG1, IgG2	+++++
	IgA	+		IgG1	+	Horse	Total IgG	+++++
	IgA1, IgA2	+		IgG2a	+		IgG(ab), IgG(c)	+
	IgE	+++		IgG2b	+		IgG(T)	+
	Fab	+		IgG2c	+++++	Guinea Pig	Total IgG	+++
ScFv	+	Rabbit	Total IgG	+++++	Hamster	Total IgG	+++	
Pig	Total IgG	+++++	Dog	Total IgG	+++++	Notes:	+ weak binding	+++ medium binding
Donkey	Total IgG	+++	Monkey	Total IgG	+++		+++++ strong binding	- no binding
Cat	Total IgG	+++++	Chicken	Total IgG	-			

相关产品推荐

1X PBS (无菌) (货号: AC08L011)

Western/IP 细胞裂解液 (带抑制剂) (货号: AP01L076)

蛋白示踪上样缓冲液 (5x) (货号: AP14L036)