Protein G 磁珠

产品描述

Protein G 磁珠为直径 200nm 的纳米磁珠，表面共价结合大量重组 Protein G 蛋白。纳米级磁珠由于高的表面积与体积比，会提供更多结合位点，磁珠使用量更少，非特异性吸附率低。重组 Protein G 蛋白更适合于结合 mouse IgG_1 , IgG_{2a} , IgG_{2b} , IgG_3 , rat IgG_1 , IgG_{2a} ,IgG_{2b} , IgG_{2c} , rabbit and goat polyclonal Abs，以及 human IgG_1 , IgG_2 , IgG_3 和 IgG_4 。本产品广泛应用于细胞裂解液、细胞培养上清、血清、腹水等样品中的抗原免疫沉淀（IP）或免疫共沉淀（Co-IP）。

订购信息

产品名称	货号	规格
Protein G 磁珠	AP62L122	1 mL
Protein G 磁珠	AP62L123	5*1 mL

运输与保存

蓝冰运输。4°C保存，有效期 24 个月。**注：**避免冻融或离心磁珠。

技术参数

基质	硅基磁珠
配体	重组 Protein G 蛋白
粒径	200nm
磁珠浓度	10mg/mL
结合能力	≥0.85mg hIgG/mL 磁珠
适用范围	IP，Co-IP，ChIP，RIP 等

使用方法

（一）样本制备

对于贴壁细胞样品：

1. 移除培养基，用 PBS 洗涤细胞两次。
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 5-20min，期间需多次轻轻翻转混合以促进细胞裂解。
3. 在 4°C 条件下，12000-16000g，10 min 离心收集上清液，置于冰上以备后续实验，或存放于-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	500-1000 μL
60 mm	100-300 μL
6 孔板	100-200 μL

对于悬浮细胞样品：

1. 在 4°C 条件下，500-1000g，10min，收集细胞，弃上清。
2. PBS 重悬细胞，4°C，500-1000g，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 500μL 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，期间需多次轻轻翻转混合以促进细胞裂解。
4. 在 4°C 条件下，12000 -16000g，10 min 离心收集上清液，置于冰上以备后续实验，或存放-80°C长期保存。

对于血清样品：

通常建议使用 IP Lysis/Wash Buffer 将血清样品稀释至目标蛋白的最终浓度介于 50 至 150 μg/mL。稀释后的样品可置于冰上以备用，或存放于-20°C以便长期保存。

（二）免疫复合物的制备

以下实验方案针对 2-10ug 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 2-10ug 免疫沉淀抗体结合。每个免疫沉淀反应推荐的总蛋白量为 500-1500ug。
2. 用 IP Lysis/Wash Buffer 将抗体以及制备好的样品稀释至 300-500μL。
3. 在室温下旋转孵育 1-2 h，或 4°C 2-4 h，以形成抗体和目标蛋白的免疫复合物。

注：样品所需的量和孵育时间均依赖于每个特定的抗体和抗原体系，因而可能需要优化，以达到最佳效果；建议使用相应的同种亚型抗体对照，以便在你的抗体免疫沉淀中显示特异性结合。

（三）免疫沉淀

注：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 25-50μL Protein G 磁珠加入 1.5 mL 离心管中。
2. 向磁珠中加入 500 μL 预冷 PBS，轻柔混匀，使用磁力架分离磁珠，弃去上清。
3. 向离心管中加入 200-500 μL IP Lysis/Wash Buffer，颠倒离心管数次或轻微涡旋混匀 1min。用磁力架分离磁珠，弃去上清。
4. 将抗原样品/抗体免疫复合物加入装有磁珠的离心管中，混匀仪上室温孵育 1-2 h，或 4°C，2-4 h。
5. 用磁力架分离磁珠，除去未结合的样品，并保存以备分析。
6. 向离心管中加入 1000 μL IP Lysis/Wash Buffer，轻柔混匀 5-10min，收集磁珠，弃上清。再重复洗两次。
7. **变性洗脱：**向离心管中加入 80-100 μL SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液（1×），将样品置于 100°C水浴或者金属浴中加热 10 min。通过磁力架分离磁珠，收集含有目的抗原的上清进行后续实验。**注：**当使用的一抗检测分子量在 50 或 25kDa 范围内的蛋白质时，建议使用构象特异性二抗进行检测，以尽量减少抗体重链或轻链的干扰；如需保持蛋白活性，也可采用以下洗脱方式：

   低 pH 洗脱：此方法为非变性洗脱法，洗脱的样品保持原有的生物活性，可用于后期功能分析。向离心管中加入 100 μL 洗脱液（0.1M 甘氨酸，pH2.5），混匀在室温下孵育离心管 5-10 min。接着置于磁力架上静置约 30s，待磁吸完全后，收集上清至新的 Ep 管，并立即加入 20 μL 的中和缓冲液（1M Tris-HCl，pH8.0），将洗脱产物 pH 调节至中性，样品用于后期功能分析。

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. 在免疫共沉淀（IP）实验中，不同类型的抗体与其对应抗原之间的亲和力可能有所不同，并且这种结合效率还可能受到 IP Lysis/Wash Buffer 的影响。若当前实验步骤未能获得理想结果，建议调整操作细节或自行筛选及配制适合的缓冲液，也可使用李记生物相关试剂，详见底部。
4. Protein A、Protein G 和 Protein A/G 与不同种类的免疫球蛋白（Ig）及其亚类的结合强度表，请详见官网 **www.life-ilab.com**。

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（5 x）（货号：AP14L036）