

Rabbit IgG 免疫磁珠

Catalog Number: EA-IP-200M

Note: 请勿离心，轻柔混匀后使用。

性能指标

应用范围	应用于免疫沉淀 (Immunoprecipitation, IP) 等抗体相关实验时兔来源抗体磁珠的对照 IgG 磁珠，可排除 IgG 本身和特定目的蛋白或其它特定生物分子的非特异性结合。
抗体属性	兔来源的 IgG。
凝胶属性	磁珠，平均粒径 3 μm 。
凝胶载量	1mL 磁珠悬液，含约 20mg 磁珠，共价偶联约 1mg 兔 IgG 抗体。
主要成分	0.25mL Rabbit IgG 免疫磁珠，保存于 0.75mL 含防腐剂的 PBS 中。

注意事项

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品以悬液形式提供亲和磁珠，使用前先温和重悬磁珠悬液，然后按照需求取用。
4. 勿离心、冷冻、干燥磁珠，勿使用超声处理磁珠，勿使酸处理磁珠时间超过 10min。
5. 混匀磁珠时，请采用移液枪轻柔吹打，柔和涡旋，上下颠倒及摇床混匀等方法。勿使用超声等方法。
6. 配套使用的相关试剂，需实验室自备。

使用方法

1. 目标蛋白样品制备

1) 血清及分泌表达目标蛋白样品处理

收集血清或培养基上清，检测目标蛋白浓度。如果目标蛋白质浓度较高，建议用 1×PBS 稀释至蛋白质终浓度为 10~100 $\mu\text{g/mL}$ ，以备后续实验。

2) 细胞内表达目标蛋白样品处理

- a. 将悬浮细胞或贴壁细胞从细胞培养瓶上吹下来后转入离心管中，1000rpm 离心 5min，弃上清。
- b. 用预冷至 4°C 的 1×PBS 重悬细胞，1000rpm 离心 3min，弃上清。重复 1 次。
- c. 根据细胞的量加入相应体积的细胞裂解液，反复吹打后冰上放置 10~20min。

注：一般 1mL 细胞裂解液可以处理约 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞。为了避免目标蛋白质降解，您可以添加蛋白酶抑制剂（PMSF 工作浓度：0.1~1.0mmol/L）。

- d. 用超声破碎仪处理细胞裂解液，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。冰上放置 30min 之后，12000rpm，4°C 离心 10min。取上清，可立即进行下一步实验或置于 -80°C 冻存。

注：若无超声破碎仪，也可使用削成斜口的枪头或注射器反复吹吸，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。

2. 装柱及孵育

1) Rabbit IgG 免疫磁珠准备

- a. 温和重悬 Rabbit IgG 免疫磁珠，混合均匀，取 40 μL 磁珠悬液（约含 10 μL 磁珠）至离心管中。
- b. 加入 500 μL 的 1×PBS 轻柔重悬清洗磁珠，磁力架上静置 10 sec 后，弃上清，重复上述步骤 2 次。

注：多个样品时，可将磁珠重悬后分装到数个反应管中分别进行反应。

For Research Use Only

2) 目的蛋白与 Rabbit IgG 免疫磁珠的结合

- a. 孵育：清洗后的磁珠中加入 500 μ L 准备好的样本，摇床上室温孵育 2h，也可 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜或更长时间。
- b. 清洗：孵育完毕后，磁性分离，弃上清。加入 500 μ L 1 $\times$ PBS，温和混匀，清洗磁珠，磁性分离，弃上清。重复 3 次。

3) 目标蛋白洗脱

以下以 Anti-FLAG (DYKDDDDK) 免疫磁珠为例，Anti-FLAG 免疫磁珠使用某种洗脱方式时，Rabbit IgG 免疫磁珠作为阴性对照，需要使用相同的洗脱方式。

变性洗脱法

此方法只适用于 SDS-PAGE 检测。

- a. 加入 20 μ L 1 $\times$ PBS 和 5 μ L 5 $\times$ 上样缓冲液，煮样 5min，冷却至室温并离心。
- b. 取上清进行 SDS-PAGE 实验，以备后续的 Western Blotting 检测。

酸性洗脱法

酸性洗脱方式，成本低，操作时间短，一般不引起蛋白变性，便于对蛋白的后续分析检测。

- a. 将预冷的 0.5mL 或 20 倍磁珠体积，pH 3.0 的酸性洗脱液加入上述沉淀，悬浮磁珠，室温孵育 5min。
- b. 孵育结束后，磁性分离，转移上清到新的离心管中，并立即加入 1/10 体积的 pH 8.0 的中和液，混匀。
- c. 立刻使用或 -80 $^{\circ}$ C 保存蛋白质。

背景信息

Rabbit IgG 免疫磁珠由高品质的正常兔 IgG 与磁珠共价偶联而成，通常用作免疫沉淀、免疫共沉淀、染色质免疫沉淀等抗体相关实验时兔来源抗体磁珠的对照 IgG 磁珠。作为对照磁珠时，可以排除 IgG 本身和特定目的蛋白或其它特定生物分子的非特异性结合。

储存方法

4 $^{\circ}$ C 可保存 12 个月。