

BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads (兔IgG磁珠)

产品编号	产品名称	包装
P2173-1ml	BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads (兔IgG磁珠)	1ml
P2173-5ml	BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads (兔IgG磁珠)	5ml

产品简介:

- 碧云天生产的BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads, 即兔IgG磁珠, 也称兔IgG免疫磁珠、Rabbit Normal IgG Magnetic beads、兔正常IgG磁珠或兔正常IgG免疫磁珠, 是由高品质的正常兔IgG与纳米级氨基磁珠共价偶联而成, 通常用作免疫沉淀 (Immunoprecipitation, IP)、免疫共沉淀(Co-IP)、染色质免疫沉淀(Chromatin immunoprecipitation, ChIP)等抗体相关实验时兔来源抗体磁珠的对照IgG磁珠。
- 本兔IgG磁珠中的兔IgG (Rabbit IgG)为正常的兔IgG (Normal Rabbit IgG), 是一种未经任何标记的非特异性IgG (non-specific IgG)。
- 本兔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。本产品进行免疫沉淀的流程参考图1。

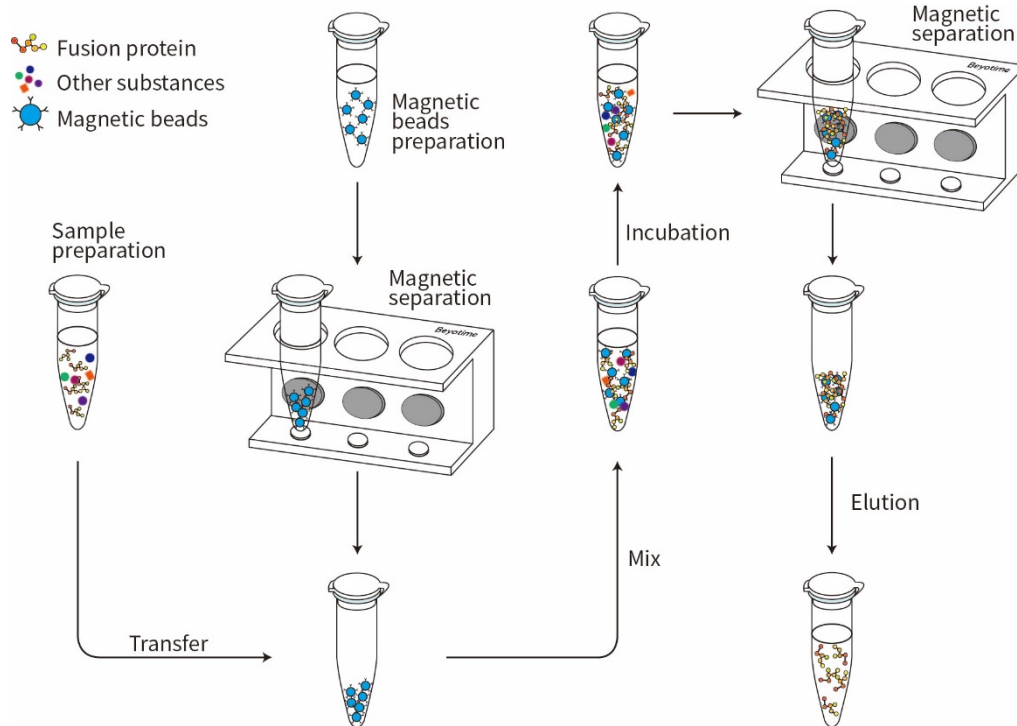


图1. 碧云天的BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads (兔IgG磁珠)免疫沉淀流程图。

- **本产品非特异吸附低。**与国内外大多数的同类产品相比, 本产品磁珠粒径小, 不易产生非特异吸附。本产品每毫升磁珠悬浊液含约10mg磁珠, 含有不少于0.5mg兔IgG抗体, 该磁珠基本不会识别任何抗原。使用量参考正常抗体免疫磁珠的用量。
- **本产品使用便捷。**本产品储存在特殊保护液中, 不含甘油, 可以通过磁性吸附实现快速高效的分离, 无需离心操作。
- 本产品的主要指标如下表:

Characteristics	Description
Product content	10mg/ml magnetic beads in specific protective buffer
Beads size	~200nm
Magnetization	Superparamagnetic
Coupled antibody	Normal rabbit antibody
Isotype	Rabbit IgG
M.W. of antibody	Approximately 150kDa
Antibody	≥0.5mg Rabbit IgG per ml beads

Binding capacity	None
Specificity	None
Elution method	Elution with acid, competing peptide or SDS - PAGE loading buffer
Application	IP, Co-IP, Protein purification

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P2173-1ml	BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads (兔IgG磁珠)	1ml
P2173-5ml	BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads (兔IgG磁珠)	5ml
—	说明书	1份

保存条件:

4°C保存, 两年有效。长期不使用, 可以-20°C保存, -20°C可以保存更长时间。

注意事项:

- 本产品经测试, 反复冻融3次以上, 不影响使用效果。
- 本产品需维持pH为6-8, 避免高速离心和干燥; 请勿长时间将磁珠置于磁场中, 否则可能会引起磁珠聚团。
- 本产品使用前要适当充分重悬, 即颠倒若干次使磁珠混合均匀, 混匀操作须轻柔, 不宜剧烈涡旋震荡等, 避免抗体变性等。
- 在免疫沉淀或纯化时, 建议设置阳性和阴性对照组。
- 蛋白样品收集后宜尽快完成纯化工作, 并应始终放置在4°C或冰浴, 以减缓蛋白降解或变性。为有效抑制蛋白降解, 可以在蛋白样品中添加适量的蛋白酶抑制剂混合物, 例如碧云天的P1005/P1006蛋白酶抑制剂混合物(通用型)、P1048/P1049 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)、P1010/P1011 蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)、P1050/P1051 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 50X)等。
- 如果使用真空泵等仪器吸取上清液, 须注意真空泵的吸液强度, 以免吸力过大而吸取到聚集的磁珠。
- 酸性溶液洗脱时磁珠可能会发生聚集, 属于正常现象, 不影响磁珠的正常使用。0.1%的非离子型去垢剂(如Triton X-100、Tween-20或NP-40)可有效防止磁珠聚集, 并且不会影响磁珠的抗体结合效率。
- 高浓度的DTT、巯基乙醇、盐酸胍等对本产品与标签蛋白的结合可能有一定影响, 但Western及IP细胞裂解液(P0013)、RIPA裂解液(P0013B/C/D)或NP-40裂解液(P0013F)等都完全适用。碧云天生产的不同裂解液的主要特点和差异, 以及如何选择裂解液可参考我们的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/lysis-buffer.htm>。
- 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, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 样品的制备。

- 选择合适的裂解液, 用于制备细胞或组织的裂解液。优先推荐选择碧云天生产的P0013 Western及IP细胞裂解液用于细胞或组织样品的裂解。根据特定的实验目的, 如有必要, 也可以使用碧云天生产的P0013B RIPA裂解液(强)、P0013C RIPA裂解液(中)或P0013D RIPA裂解液(弱)用于样品的制备。如果使用自行配制的或其它公司生产的裂解液, 需要确保裂解液的pH为6-8。
- 具体的细胞或组织样品裂解的制备步骤请参考裂解液的使用说明。制备好的裂解液上清宜置于冰上或4°C存放, 随后即可用于免疫沉淀或免疫共沉淀、标签蛋白的纯化等操作。新鲜制备好的样品, 建议尽量当天完成免疫沉淀等后续操作, 但如果样品不能当天使用, 也可以适当分装后-80°C冻存。

2. 兔IgG磁珠的准备。

由于兔IgG磁珠储存在特殊保护液中, 所以需要在加入样品前适当洗涤。

- 用移液器轻轻吹打重悬兔IgG磁珠, 按照每500μl样品10μl或20μl磁珠悬浊液, 取适量兔IgG磁珠至一洁净离心管中(FTUB015), 加入1X TBS (ST661/ST665)至最终体积为约0.5ml。说明: 如果初始体积大于0.2ml, 可以考虑先直接置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离10秒, 去除上清, 然后再加入1X TBS (ST661/ST665)至最终体积为约0.5ml。
- 用移液器轻轻吹打重悬兔IgG磁珠。置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离10秒, 去除上清。重复上述步骤两次。
- 按照初始体积的量, 用1X TBS (ST661/ST665)重悬兔IgG磁珠。

3. 免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP):

- 加入磁珠与孵育。**按照每500μl蛋白样品加入10μl或20μl磁珠悬浊液的比例加入兔IgG磁珠, 置于侧摆摇床或旋转混合仪上, 室温孵育2小时或4°C孵育过夜。注: 孵育过程中, 如果磁珠发生聚团或呈片状属正常现象, 不会影响实验结果。
- 磁分离。**孵育完毕后, 置于磁力架上分离10秒, 去除上清。注: 可保留部分上清液, 用于检测免疫沉淀的效果。
- 洗涤。**加入500μl的1X TBS, 用移液器轻轻吹打重悬兔IgG磁珠。置于磁力架上分离10秒, 去除上清。重复洗涤三次。注: 也可以通过检测洗涤得到的洗涤液的OD₂₈₀来判断是否洗涤完全, 若OD₂₈₀大于0.05, 应适当增加洗涤次数。

4. 洗脱:

根据标签蛋白的特点及后续实验要求, 可以选择如下3种方法之一进行洗脱。以下以兔源的Anti-Flag磁珠为例, 兔Anti-Flag磁珠采用一种方式洗脱时, 兔IgG磁珠作为阴性对照, 需要使用相同的洗脱方式。

- 3X Flag竞争洗脱法:**本方法为非变性的, 洗脱效率高, 且洗脱后的蛋白保持原有的生物活性, 便于后续分析检测。

- (a) 3X Flag多肽洗脱液的配制: 取适量3X Flag多肽(P9801)溶解于1X TBS中, 使其终浓度为150 μ g/ml, 或稀释5mg/ml的3X Flag多肽溶液(P9801)至150 μ g/ml。
- (b) 每10-20 μ l原始磁珠体积, 加入100 μ l 3X Flag多肽洗脱液(150 μ g/ml), 混匀后置于侧摆摇床或旋转混合仪上, 室温摇晃孵育30-60分钟, 或4 $^{\circ}$ C孵育1-2小时。为了提高洗脱效率, 可延长孵育时间或重复洗脱。
- (c) 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。上清即为洗脱的Flag标签蛋白。
- (d) 洗脱的Flag标签蛋白置于4 $^{\circ}$ C待用, 或者-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C长期保存。
- b. 酸性洗脱法:** 本方法为非变性法, 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。
- (a) 溶液的配制: 酸性洗脱液(0.1M Glycine-HCl, pH3.0), 中和液(0.5M Tris-HCl, pH7.4, 1.5M NaCl)。
- (b) 每10-20 μ l原始磁珠体积, 加入100 μ l酸性洗脱液, 混匀后置于侧摆摇床或旋转混合仪上, 室温孵育5分钟。**注:** 孵育时间不宜超过15分钟。
- (c) 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, 适当混匀。
- (d) 为了获得最大的洗脱效率, 可重复步骤b和c, 并将相同样品合并。
- (e) 洗脱并中和的Flag标签蛋白置于4 $^{\circ}$ C待用, 或者-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C长期保存。
- 注1: 酸性洗脱法虽然高效, 但仍可能低于竞争洗脱法或SDS-PAGE上样缓冲液洗脱法。
- 注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, 例如100 μ l酸性洗脱液(0.1M Glycine-HCl, pH2.8)和15 μ l中和液(1M Tris-HCl, pH8.5)。
- c. 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WB检测。
- (a) SDS-PAGE上样缓冲液的配制: 可以直接使用碧云天生产的P0015A SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1X), 或使用碧云天生产的P0015 SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5X)或自行参考《分子克隆》等配制5X或2X的SDS-PAGE蛋白上样缓冲液, 然后加入水配制成1X的SDS-PAGE蛋白上样缓冲液。通常SDS-PAGE蛋白上样缓冲液含有DTT等还原剂, 其洗脱得到的蛋白样品中会含有Flag抗体的轻链和重链。
- (b) 每10-20 μ l原始磁珠体积的磁珠, 加入100 μ l 1X SDS-PAGE上样缓冲液, 95 $^{\circ}$ C加热5分钟。
- (c) 置于磁力架上分离10秒, 取上清进行SDS-PAGE电泳或Western检测。

常见问题:

Problem	Possible Causes	Solution
Background is too high.	Proteins bind nonspecifically to the rabbit IgG monoclonal antibody, insufficient washing on magnetic beads, or the microcentrifuge tubes.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pre-clear lysate with Rabbit IgG Magnetic Beads (P2171) to remove nonspecific binding proteins. 2. After suspending beads for the final wash, transfer entire sample to a clean microcentrifuge tube before centrifugation.
	Washes are insufficient.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Increase the number of washes. 2. Prolong duration of the washes, incubating each wash for at least 15 minutes. 3. Increase the salt and/or detergent concentrations in the wash solutions. 4. Centrifuge at lower speed to avoid nonspecific trapping of denatured proteins.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P2102-1ml	BeyoMag™ Protein A磁珠	1ml
P2102-5ml	BeyoMag™ Protein A磁珠	5ml
P2105-1ml	BeyoMag™ Protein G磁珠	1ml
P2105-5ml	BeyoMag™ Protein G磁珠	5ml
P2108-1ml	BeyoMag™ Protein A+G磁珠	1ml
P2108-5ml	BeyoMag™ Protein A+G磁珠	5ml
P2115-0.5ml	BeyoMag™ Anti-Flag Magnetic Beads (Anti-Flag磁珠)	0.5ml
P2115-2ml	BeyoMag™ Anti-Flag Magnetic Beads (Anti-Flag磁珠)	2ml
P2118-0.5ml	BeyoMag™ Anti-Myc Magnetic Beads (Anti-Myc磁珠)	0.5ml
P2118-2ml	BeyoMag™ Anti-Myc Magnetic Beads (Anti-Myc磁珠)	2ml
P2121-0.5ml	BeyoMag™ Anti-HA Magnetic Beads (Anti-HA磁珠)	0.5ml
P2121-2ml	BeyoMag™ Anti-HA Magnetic Beads (Anti-HA磁珠)	2ml
P2151-200 μ l	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	200 μ l

P2151-1ml	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	1ml
P2151-5ml	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	5ml
P2171-1ml	BeyoMag™ Mouse IgG Magnetic Beads (小鼠IgG磁珠)	1ml
P2171-5ml	BeyoMag™ Mouse IgG Magnetic Beads (小鼠IgG磁珠)	5ml

Version 2024.01.10