

Anti-RFP Magnetic-G Beads 免疫磁珠

产品编号	产品名称	包装规格
NBS0247-0.2ml	Anti-RFP Magnetic-G Beads 免疫磁珠	0.2ml
NBS0247-1ml	Anti-RFP Magnetic-G Beads 免疫磁珠	1ml

产品简介:

红色荧光蛋白基因 (RFP) 是从海葵中分离出的一种红色荧光蛋白基因, 其蛋白质的最大吸收光谱为 583 nm, 不需要任何预处理便可检测到, 通过重组 DNA 技术将 RFP 标签融合到目的蛋白的 C 端或 N 端后, 可以检测其融合表达蛋白的表达、定位纯化, 该系统已广泛应用于各种细胞类型, 包括细菌、酵母和哺乳动物细胞等。

磁珠性质:

高聚物磁珠采用高分子聚合技术将超顺磁性材料和高分子材料完美地结合在一起, 具有更快的磁响应性同时保持微球良好的分散性、极低的非特异性吸附和更丰富的结合位点。磁珠具体性能见下表。

项目	性能
微球基质	高聚物磁性微球
配体	Anti-RFP 重组标签抗体 (人源化)
粒径	1 μ m
磁珠浓度	10mg/ml
储存缓冲液	Tris (pH8.0), 0.01% Tween20, 0.1% proclin 300

保存条件:

2-8°C保存, 2 年有效。

产品使用:

1. 本操作流程主要为蛋白互作实验, 每次反应使用 20 μ l Anti-RFP Magnetic-G Beads 免疫磁珠。

2. 推荐缓冲液 (自备):

缓冲液名称	试剂配置
洗杂缓冲液	20mM Na ₂ HPO ₄ , 0.15M NaCl, 0.05% Tween-20, pH=7.4
洗脱液	0.1M Glycine, 0.15M NaCl, pH=3.0
中和缓冲液	1M Tris-HCl, pH8.0

3. 磁珠漂洗:

- 1) 将磁珠充分混匀后取 20μl 磁珠置于离心管中, 向管中加入 500μl 洗杂缓冲液, 上下颠倒混匀 5-10 次。
- 2) 将离心管置于磁力架上, 待磁珠全部吸附后, 吸弃上清。
- 3) 向管中加入 500μl 洗杂缓冲液, 上下颠倒混匀 5-10 次, 将离心管置于磁力架上, 待磁珠全部吸附后, 吸弃上清。
- 4) 重复操作 3 次。

4. 样品孵育

- 1) 向上述漂洗好的磁珠中加入 500-1000μl 的细胞裂解样品, 常温或 4℃下孵育 60min (建议在旋转混匀仪上孵育, 使样品和磁珠充分接触)。
- 2) 孵育结束后, 将离心管置于磁力架上, 待磁珠全部吸附后, 将上清转移至新的离心管中, 留样备检。
- 3) 向离心管中加入 500μl 洗杂缓冲液, 轻轻颠倒混匀 5-10 次后将离心管置于磁力架上, 待磁珠完全吸附后弃去上清。
- 4) 重复操作 5 次。

注: 孵育温度和时间范围推荐为: 室温 0.5h-2h 或者 4℃、1h-4h, 根据实际的结合效果适当调整孵育时间, 一般情况下不建议过夜孵育, 过夜孵育可能会引起过多的非特异性吸附。磁珠每次洗涤, 加入洗杂缓冲液后可以冰上静置 3-5 分钟。

5. 蛋白洗脱

1) 洗脱液洗脱

每 20μl 原始磁珠体积加入 40μl 洗脱液, 常温或 4℃洗脱 5-10min, 期间轻轻混匀 3-5 次。孵育结束后将离心管置于磁力架上, 待磁珠完全吸附后, 吸取上清至新的离心管中, 加入少量的中和缓冲液将 pH 调至中性, 最后进行 Western 检测。

2) SDS-PAGE 上样缓冲液洗脱

每 20μl 原始磁珠体积加入 60μl 的 1×SDS Loading Buffer, 轻摇摇晃混匀后 95-100℃高温处理 5-10min。将离心管置于磁力架上分离 10s, 取上清进行 SDS-PAGE 电泳或进行 Western 检测。

注意事项：

1. 本产品保存在 2-8°C，不可冻结保存。
2. 本产品出现轻微团聚属正常现象，可正常使用。
3. 本产品不要使用含有 DTT 等还原剂的细胞裂解液样品，DTT 可能会导致抗体配体的脱落。
4. 本产品能耐受 $\leq 2\text{M}$ 尿素，高浓度的尿素会导致抗体配体脱落。
5. 在清洗和洗脱时避免吸取到磁珠，清洗时吸取到磁珠会影响最终的载量，洗脱时吸取到磁珠会影响目的蛋白的质量和电泳效果，第一次洗脱后可以将洗脱液置于新的离心管中，再次置于磁力架上进行吸附。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

常见问题：**1) 聚合物磁珠和琼脂糖磁珠有何区别？**

- a) 琼脂糖磁珠是带孔微球，粒径在 30-100 μm ，交联时会有一部分配体会进入球孔内部，所以偶联载量相对较高，适用于蛋白的快速纯化；而聚合物磁珠通常粒径为 1-3 μm 以下，配体主要分布在微球表面，这种类型的磁珠能够快速结合蛋白，空间位阻影响小，适用于蛋白互作实验，但其载量不高；
- b) 推荐使用琼脂糖磁珠进行蛋白纯化实验，使用聚合物磁珠进行蛋白互作实验如 IP、Co-IP 和 pulldown 实验等。

2) 为何结合不到目的蛋白？

- a) 可能是由于蛋白无表达造成的，建议在纯化前用 WB 检测下蛋白原始表达量，如果 WB 无信号，目的蛋白很难捕获；
- b) 样本中有高浓度的还原剂等干扰物质，建议选用合适的裂解液，或者直接超声破碎 (Co-IP 实验不建议使用超声破碎)。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！

相关产品:

类型	产品编号	产品名称	包装规格
纳米二抗 免疫磁珠	<u>NBS0240-20μl</u>	<u>HRP-Anti Mouse Fab Nanobody for IP</u>	20μl
	<u>NBS0241-20μl</u>	<u>HRP-Anti Rabbit Fab Nanobody for IP</u>	20μl
标签抗体 免疫磁珠	<u>NBS0242-0.2ml</u>	<u>Anti-DYKDDDDK(FLAG) Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0243-0.2ml</u>	<u>Anti-HA Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0244-0.2ml</u>	<u>Anti-His Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0245-0.2ml</u>	<u>Anti-Myc Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0246-0.2ml</u>	<u>Anti-GFP Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0247-0.2ml</u>	<u>Anti-RFP Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0248-0.2ml</u>	<u>Anti-MBP Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0249-0.2ml</u>	<u>Anti-Strep-tag II Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0250-0.1ml</u>	<u>Control IgG Magnetic-G Beads 免疫磁珠</u>	0.1ml
	<u>NBS0150-1ml</u>	<u>rProtein A/G MagPoly Beads 免疫磁珠</u>	1ml
标签抗体 纯化磁珠	<u>NBS0251-0.2ml</u>	<u>Anti-DYKDDDDK(FLAG) Magnetic Agarose Beads 纯化磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0252-0.2ml</u>	<u>Anti-HA Magnetic Agarose Beads 纯化磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0253-0.2ml</u>	<u>Anti-His Magnetic Agarose Beads 纯化磁珠</u>	0.2ml
	<u>NBS0254-0.2ml</u>	<u>Anti-Myc Magnetic Agarose Beads 纯化磁珠</u>	0.2ml