



## RFP-Magnetic 免疫沉淀试剂盒 (PROCAP RFP-Magnetic IP/CoIP KIT)

产品货号: PRM025

存储条件: IP buffer 存储于-20°C, RFP-Magnetic beads 可在 4°C保存 1 年, 或在-80°C

长期保存。请根据各组分适合储存条件存放, 并避免反复冻融。

### 试剂盒组分:

货号	名称	规格
RNM-25-1000	MYC-Nanoab-Magnetic	1000ul (25T)
IP001A	裂解液 A	50ml
IP001B	裂解液 B	50ml
IP001C	漂洗液 C	50ml
IP001D	漂洗液 D	50ml
IP001E	洗脱液 E	3x1ml
CLJ0615	磁力架 1.5ml, 6 孔	个

### 产品简介

LABLEAD 的免疫沉淀 beads 是基于基因工程改造的纳米抗体开发的; 纳米抗体由传统抗体的重链可变区 (VHH) 组成, 具有分子量小、亲和力高、特异性强, 且耐酸碱高温环境等特点; 基于纳米抗体的优点, LABLEAD 的免疫沉淀 beads 避免了免疫沉淀结果出现轻重链污染的现象, 并且节省实验时间。

### 实验步骤:

提示: 尽量在 4°C 进行操作, 洗脱蛋白方法一除外。

#### 1. 收集细胞:

根据实验要求收集适量的细胞, 通常每个免疫沉淀反应大约使用  $10^6$ - $10^7$  个细胞。

#### 2. 裂解细胞:

根据实验要求选择使用溶液 A 或溶液 B 裂解细胞。在溶液 A 或溶液 B 中加入蛋白酶抑制剂,





用 500  $\mu$ l 预冷的溶液 A 或溶液 B 重悬细胞；置于冰上 30 分钟，可每 10 分钟充分吹打一次；

4 $^{\circ}$ C，20,000g 离心 15 分钟，将裂解产物（上清）转移到一个新的预冷管中，丢弃沉淀。

### 3. 平衡珠子：

振荡充分混匀珠子，吸取 40  $\mu$ l RFP beads 到 500  $\mu$ l 预冷的溶液 A 或溶液 B 中，4 $^{\circ}$ C，2,500g 离心 2 分钟，或利用磁性分离，丢弃上清液。

### 4. 结合蛋白：

将平衡好的 beads 加入到细胞裂解产物中，于 4 $^{\circ}$ C 旋转混合结合 30min-1h。

### 5. 清洗珠子：

根据实验要求选择使用溶液 C 或溶液 D 清洗 beads。4 $^{\circ}$ C，2,500g 离心 2 分钟，或利用磁性分离，丢弃上清液。用 500  $\mu$ l 预冷的溶液 C 或溶液 D 重悬 beads，4 $^{\circ}$ C，2,500g 条件下离心 2 分钟，或利用磁性分离，丢弃上清液并重复洗涤 3 次。

### 6. 洗脱蛋白

#### 方法一：

加入 20  $\mu$ l 2 $\times$ SDS-sample buffer 重悬 beads。95 $^{\circ}$ C，加热 10min 充分变性，2,500g 离心 2 分钟或利用磁性分离收集上清，收集的产物可进行 SDS-PAGE 及免疫印迹分析。

#### 方法二：

加入溶液 E 洗脱结合的蛋白，孵育时间 30 秒，期间不断混匀，2,500g 离心 2 分钟或利用磁性分离收集上清，为了中和酸性的甘氨酸，需加入 5  $\mu$ l 1.0 M Tris (pH10.4)。

注意：为了提高洗脱效率可以重复这一步。收集的产物可进行 SDS-PAGE 及免疫印迹分析。

### 注意事项

- 1、关于裂解液的选择：裂解液 A 为温和裂解液，裂解液 B 为强裂解液，请根据自己实验样本选择相应的裂解液，如：若为胞质蛋白可选裂解液 A 或者 A 与 B 混合使用，若为核蛋白则可选择裂解液 B。
- 2、为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
- 3、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。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

