

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

产品货号: PHM025

存储条件: IP buffer 存储于-20°C, HA-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
HNM-25-1000	HA-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 μ 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°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 μ l HA beads 到 500 μ l 预冷的溶液 A 或溶液 B 中, 4°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°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°C, 2,500g 离心 2 分钟, 或利用磁性分离, 丢弃上清液。用 500 μ l 预冷的溶液 C 或溶液 D 重悬 beads, 4°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 μ l 2 \times SDS-sample buffer 重悬 beads。95°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 μ 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。

