

## V5-Magnetic免疫沉淀试剂盒

产品货号: M20505

产品规格: 25T

### 产品简介:

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, 免疫沉淀beads避免了免疫沉淀结果出现轻重链污染的现象, 并且孵育时间短大大节省实验时间。

### 产品组成:

产品名称	规格	保存条件
V5-Nanoab-Magnetic	1000ul	-20°C
裂解液 A	30ml	-20°C
裂解液 B	30ml	-20°C
漂洗液 C	30ml	-20°C
漂洗液 D	30ml	-20°C
洗脱液 E	3×1ml	-20°C
磁力架1.5ml, 6孔	个	室温

### 实验步骤:

提示: 尽量在4°C进行操作, 洗脱蛋白方法—除外。

#### 1. 植物组织裂解处理:

取适量植物组织样本(叶片等)放置于冷冻液氮中, 之后将冷冻后得植物组织样本放于研钵进行研磨, 尽可能充分研磨破坏其细胞壁。加入500-1000ul裂解液A或裂解液B(需加入PMSF溶液)进行裂解, 为了提高裂解效率, 可加入200ul玻璃粉按照600-800g离心力充分震荡30min, 裂解完成后12000rpm, 离心30min, 吸取上清置于新的离心管中, 弃去沉淀。(进行第3步)

#### 2. 动物细胞裂解

##### 2.1 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。

##### 2.2 裂解细胞:

根据实验要求选择使用溶液A或溶液B(溶液选择可参考注意事项1)裂解细胞。在溶液A或溶液B中加入蛋白酶抑制剂, 用500ul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40ul V5-Nanoab-Magnetic beads到500ul预冷的溶液A或溶液B中, 4°C, 在磁力架上分离磁珠直到上清变成清亮的状态, 丢弃上清液。(此步骤可选)

4. **结合蛋白:** 将平衡好的beads(如果未做第4步, 可在细胞裂解产物中直接加入40ul slurry)加入到细胞裂解产物中, 于4°C旋转混合结合30min-1h。在磁力架上分离磁珠直到上清变成清亮的状态, 丢弃上清液。

#### 5. 清洗珠子:

根据实验要求选择使用溶液C或溶液D(漂洗液的选择可参考注意事项1)清洗beads。4°C, 利用磁性分离, 丢弃上清液。用500ul预冷的溶液C或溶液D重悬beads, 4°C, 在磁力架上分离磁珠直到上清变成清亮的状态,



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

丢弃上清液并重复洗涤2次。（可选：在第二次洗涤的步骤中增加盐浓度到500mM）。

## 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，V5-Nanoab-Magnetic beads可在磁力架上分离，收集的产物可进行SDS-PAGE及免疫印迹分析。

方法二：

加入50ul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，立即加入5 $\mu$ l 1.0M 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. 关于裂解液与裂解液的选择：

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。

漂洗液C和漂洗液D的选择：裂解液D为高盐溶液，可能会破坏蛋白间较弱的相互作用），若两个蛋白相互作用强，同时还想减少非特异性结合，可选D；若两个蛋白相互作用弱的优先C。

#### 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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com