

Anti-V5 Magnetic Beads

Cat# PM0019

产品概述

Anti-V5 Magnetic Beads 是粒径为 200nm 的纳米磁珠表面上共价结合了大量的高质量鼠源抗 V5 单克隆抗体，纳米级磁珠提供的超大比表面积，具有更多的结合位点，磁珠用量更少，非特异性吸附率低。本产品广泛应用于细胞裂解物、细胞分泌上清、血清、腹水等样品中带有 V5 标签融合蛋白的免疫沉淀 (IP) 或免疫共沉淀 (Co-IP)。由于采用磁性分离，使得每次 IP 和 Co-IP 可以节省 40% 的时间。

产品性能

基质	硅基磁珠
配体	鼠源抗 V5 单克隆抗体
粒径	200 nm
磁珠浓度	10 mg/mL
结合能力	≥ 0.6 mg V5 标签蛋白/ mL 磁珠
适用范围	IP, Co-IP 等

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
Anti-V5 Magnetic Beads	PM0019-0.1ML	0.1 mL
Anti-V5 Magnetic Beads	PM0019-1ML	1 mL
Anti-V5 Magnetic Beads	PM0019-5×1ML	5×1 mL

储存方式

2~8°C 保存，不可冷冻。

使用说明

注意事项

- 请勿高速离心、干燥或冷冻磁珠，这些操作会导致磁珠聚集而降低结合能力。
- IP 实验中不同类型的抗体与抗原结合的亲和性是有区别的，抗体与抗原结合还会受到 IP Lysis Buffer 的影响，因此可自行优化操作细节或者筛选及配制缓冲液进行实验。
- 磁珠使用前应充分振荡均匀。磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
- 本产品仅供科学研究使用。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

缓冲液配置

建议以下缓冲液在使用前用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤

IP Lysis Buffer: 50 mM Tris, 150 mM NaCl, 1% TritonX-100 (或者 1% NP-40), pH7.4

Elution Buffer: 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

Neutralization Buffer: 1 M Tris-HCl, pH 8.5

细胞样品的制备

贴壁细胞样品

1. 移去培养基, 用 PBS 洗涤细胞两次, 按比例加入 IP Lysis Buffer (注意添加 1mM PMSF 等相应的抑制剂) 裂解细胞, 混匀后置于冰上静置 5~20 min (期间混匀几次), 使细胞充分裂解 (可通过超声充分裂解细胞, 30 s on, 10 s off, 振幅设定 35%, 2-3 个循环)。
2. 4°C、12,000rpm、15 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 (或置于-80 °C长期保存)。
3. 培养皿 IP Lysis Buffer 推荐使用体积:

培养皿大小/表面积	IP Lysis Buffer 体积
100 mm × 100 mm	500~1,000 μL
100 mm × 60 mm	100~300 μL
6 孔板	100~200 μL

悬浮细胞样品

1. 4°C、1000 g、3min, 离心收集细胞, 弃上清。
2. 用 PBS 洗细胞一次, 4°C、500~1,000 g、53min, 弃上清。
3. 用预冷的 IP Lysis Buffer 重悬细胞, 每 50mg 细胞使用 500μL IP Lysis Buffer (注意添加 1mM PMSF 等相应的抑制剂) 裂解细胞, 混匀后置于冰上静置 5~20 min (期间混匀 2~3 次), 使细胞充分裂解 (可通过超声充分裂解细胞, 30 s on, 10 s off, 振幅设定 35%, 2-3 个循环)。
4. 4°C、12000rpm、15min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 (或置于-80 °C长期保存)。

血清样品

一般建议用 IP Lysis Buffer 稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 50~150 μg/mL, 置于冰上备用 (或置于-20 °C长期保存)。

免疫沉淀

【注】: 为保证磁珠均匀分布, 使用前涡旋振荡 1 min, 使其充分混匀。

1. 将 20~50 μL 的 Anti-V5 Beads 加入 1.5 mL 离心管中, 加入 500 μL 预冷的 PBS, 轻柔混匀, 将离心管放入磁力架中, 使磁珠吸附到离心管的一侧, 用移液器吸取并弃上清。
2. 向离心管中加入 200~500 μL IP Lysis Buffer, 轻微涡旋混匀 1 min, 用磁力架收集磁珠, 弃上清, 重复一次。
3. 将含有 V5 标签标记的蛋白样品加入装有磁珠的离心管中, 漩涡振荡均匀, 在室温下置于翻转混合仪翻转孵育 10min, 使抗原和抗体充分结合, 如结合能力较弱则可在室温反应 1~2h 或 4°C孵育 2~4h。
4. 孵育完毕后, 用磁力架收集磁珠, 弃上清 (可保留部分上清, 用于检测免疫沉淀的效果)。向离心管中加入 1000 μL IP Lysis Buffer, 轻柔混匀磁珠 5~10min。将离心管放入磁力架中 15 秒, 收集磁珠, 弃上清, 重复洗涤 3 次。可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, 需要适当增加洗涤次数。
5. 变性洗脱: 向离心管中加入 80~100 μL SDS-PAGE Loading Buffer (1×) 混合均匀, 煮沸 10 min。将离心管放入磁力架中去除磁珠, 保留含有目的抗原的上清, Western blotting 检测沉淀及共沉淀蛋白质。

【注】: 如需保持蛋白活性, 也可采用低 pH 洗脱: 向离心管中加入 100μL Elution Buffer。保持混匀在室温下孵育 10min。用磁力架吸附磁珠, 收集洗脱液至新的 EP 管中。每 100 μL 洗出液中加入 20 μL Neutralization Buffer 来中

和低 pH 至 7.0-8.0。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

