AlpVHHs 临界点生物

# TagFP Nanoselector® 磁珠

产品货号：017-101-003

## 简介

TagFP Nanoselector® 磁性琼脂糖珠是由一种抗TagFP(TagRFP/TagBFP)纳米抗体（VHH）与磁性琼脂糖珠共价结合组成，用于从哺乳动物、植物、细菌、酵母、昆虫等各种生物的细胞提取物中免疫沉淀 TagFP-融合蛋白，具有载量高、无轻重链干扰等优势。

## 特性

| | |
|---|---|
| **配体** | 抗TagFP的纳米抗体（VHH） |
| **特异性** | 与TagFP(TagRFP/TagBFP)及其融合蛋白特异性结合 |
| **结合能力** | 每 10 µL 磁珠悬液结合 20 µg TagFP 重组蛋白 |
| **珠粒大小** | ~ 4 0 µm |
| **储存缓冲液** | 10mM PBS (pH 7.5), 0.01% proclin300 |
| **储存条件** | 收货后于 4℃储存。 **请勿冷冻！** |
| **稳定性** | 收货后 4℃可稳定保存 1 年。 |
| **装运** | 低温装运 |

## 缓冲液成分建议

### 缓冲溶液要求

| 缓冲液 | 成分 |
|---|---|
| Lysis buffer | 10 mM Tris-HCL pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.5 mM EDTA, 0.5 % NP40 |
| RIPA buffer | 10 mM Tris-HCL pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.5 mM EDTA, 0.1 % SDS, 1 % TritonX-100, 1 % deoxycholate |
| Dilution buffer | 10 mM Tris-HCL pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.5 mM EDTA |
| Wash buffer | 10 mM Tris-HCL pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.05 % NP40, 0.5mM EDTA |
| 2xSDS Sample buffer | 120 mM Tris-HCL pH 6.8, 20 % glycerol, 4 % SDS, 0.04 % bromophenol blue, 10 % β-mercaptoethanol |
| Acidic elution buffer | 200 mM glycine pH 2.5 |
| Neutralization buffer | 1 M Tris-HCL pH 10.4 |

注：对于其他细胞类型如酵母、植物、昆虫、细菌，请使用相应的细胞裂解缓冲液。

注：考虑使用无去垢剂的洗涤缓冲液进行免疫共沉淀。

# TagFP Nanoselector® 磁珠

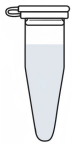
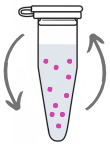
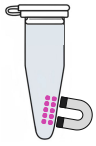
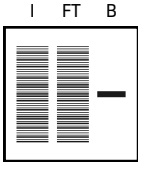
产品货号：017-101-003

AlpVHHs 临界点生物

## 产品规格

| 产品 | 规格 |
| --- | --- |
| TagFP Nanoselector® 磁珠 | 20 个反应（ 500 µL 悬浮液） |
| | 200 个反应（ 5 mL 悬浮液） |

## 流程预览

| | | |
| --- | --- | --- |
| 准备工作 | | 所有步骤均 4℃ 操作；<br>准备细胞裂解缓冲液和细胞裂解条件 |
| 细胞裂解物 |  | 每 $10^6$-$10^7$ 个细胞加入 200 µL 的 lysis buffer；<br>裂解细胞并离心取上清；<br>混合 200 µL 上清样品和 300 µL dilution buffer |
| 平衡磁珠 |  | 将 25 µL 磁珠悬浮液转移到 1.5 mL 的 EP 管中；<br>用 500 µL dilution buffer 平衡 3 次 |
| 结合蛋白 |  | 向磁珠中加 500 µL 细胞裂解物； 4℃ 上下旋转 1 小时 |
| 洗磁珠 |  | 用 wash buffer 洗涤磁珠 3 次，每次 500 µL ；<br>在最后一次洗涤步骤中，将磁珠转移到一个新 EP 管中 |
| 用 SDS Sample buffer 洗脱 |  | 80 µL 2X SDS sample buffer 重悬磁珠；<br>95℃ 以上沸水浴 5 分钟；<br>上清可用于 SDS-PAGE /WB 分析 |

# 免疫沉淀流程

## 细胞材料

以下方案描述了哺乳动物细胞裂解物的制备。
对于其他类型的细胞，我们建议使用 500 µg 细胞提取物，并从磁珠平衡步骤开始实验。

## 哺乳动物细胞裂解

注意：使用预冷的缓冲液收获细胞并裂解细胞。强烈建议将蛋白酶抑制剂添加到裂解缓冲液中，以防止目标蛋白及其结合物降解。对于一次免疫沉淀反应，我们推荐使用约 $10^6$-$10^7$ 个细胞。
1. 选择裂解缓冲液。
· 对于细胞质蛋白，通过上下吹打将细胞团重悬于 200 µL 预冷的 Lysis buffer 中。
注： Lysis buffer 使用前，需要额外添加蛋白酶抑制剂混合液和1mM PMSF。
· 对于核/染色质蛋白，将细胞团重悬于 200 µL 预冷的 RIPA 缓冲液中。
注： RIPA缓冲液使用前需要额外添加 DNaseI（ 75- 150 Kunitz U/mL）， $MgCl_2$（ 2.5 mM），蛋白酶抑制剂混合液和 PMSF（ 1 mM）。
2. 冰上放置 30 分钟，然后每 10 分钟用移液管吸取一次。
3. 4℃，17,000xg 离心细胞裂解液 10 分钟。将澄清的裂解物（上清液）转移到预冷 EP 管中，并加入 300 µL Dilution buffer（ Dilution buffer 使用前需要额外添加蛋白酶抑制剂混合液和 1mM PMSF）。如果需要，可保存 50 µL 稀释的裂解物用于进一步分析（如进行 input 对照）。

## 植物组织裂解（例：拟南芥）：

1.用纸巾将液体培养的拟南芥幼苗吸干，称取0.7克，转移到研钵中。
2.用液氮冷冻，用杵研磨成细粉。
3.加入4ml提取缓冲液(PBS,0.5% Triton X-100,0.5 mM PMSF, 蛋白酶抑制剂)，缓慢解冻，进一步研磨样品。
4.将样品转移到1.5 ml微量离心管中，在4℃下以16000 x g离心20分钟。
5.将上清液通过0.20µm的过滤注射器，并将提取物置于冰上。如果需要， 可保存 50 µL 稀释的裂解物用于进一步分析（ 如进行 input 对照）。

## 磁珠平衡

1. 通过移液枪吹打或上下旋转 EP 管悬浮磁珠。 不要漩涡磁珠！
2. 将 25 µL 的磁珠悬浮液转移到 1.5 mL 的离心管中。
3. 加入 500 µL 预冷的稀释缓冲液。
4. 用磁铁分离磁珠，直到上层溶液澄清。丢弃上清。

# TagFP Nanoselector® 磁珠

产品货号：017-101-003

AlpVHHs 临界点生物

## 蛋白结合

1. 将稀释的裂解物加入到平衡的磁珠中。
2. 在 4℃ 上下旋转 1 小时。

## 洗涤

1. 用磁铁分离磁珠，直到上层溶液澄清。
2. 如果需要，可保存 50 µL 上清液用于进一步分析（穿流液/非结合组分）。
3. 丢弃剩余的上层清液。
4. 加入 500 µL Wash buffer 重悬磁珠。
5. 用磁铁分离磁珠，直到上层溶液澄清，丢弃剩余的上清液。
6. 重复洗涤步骤（步骤 4 和 5）至少两次。
7. 在最后的洗涤步骤中，将磁珠转移到新管中。

可选： 为了增加洗涤缓冲液的强度，可测试各种盐浓度，如 150 mM-500 mM，和 / 或添加非离子洗涤剂，如 Triton X-100

## 2x SDS sample buffer洗脱

1. 丢弃剩余的上清液。
2. 加入 80 µL 2x SDS Sample buffer 重悬磁珠。
3. 在 95℃以上的 沸水浴磁珠 5 分钟，以从磁珠上分离其中的免疫复合物。
4. 用磁铁分离磁珠。
5. 用 SDS-PAGE/WB 分析上清。

## Acidic elution buffer 洗脱

1. 丢弃剩余的上清液。
2. 加入 50-100 µL Acidic Elution Buffer，在 4℃ 或室温不停吹打 30 - 60 秒。
3. 用磁铁分离磁珠直到上层溶液澄清。
4. 将上清液转移到新的离心管中。
5. 加入 5-10 µL Neutralization buffer 中和洗脱产物。
6. 至少重复洗脱步骤（步骤 2， 3， 4， 5）一次以提高洗脱效率。

注： 室温洗脱比 4℃ 效率更高。缓冲液要在室温下预温。

## TagFP相关产品

| Code Number | Product Description | Applications | Size |
|---|---|---|---|
| 017-203-001 | Anti-TagFP, AlpHcAbs® Rabbit antibody | WB,ELISA,IP | 100μg |
| 017-203-004 | Anti-TagFP, AlpHcAbs® Rabbit antibody(Biotin) | WB,ELISA,IP | 100μg |
| 017-203-005 | Anti-TagFP, AlpHcAbs® Rabbit antibody(HRP) | WB,ELISA | 100μg |

## Nanoselector 相关产品

| Code Number | Product Description | Applications | Size |
|---|---|---|---|
| 002-101-002 | Myc tag Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 002-101-003 | Myc tag Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 019-101-002 | GFP Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 019-101-003 | GFP Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 016-101-002 | DYKDDDDK tag Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 016-101-003 | DYKDDDDK tag Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 003-101-002 | HA tag Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 003-101-003 | HA tag Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 015-101-002 | MBP Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 015-101-003 | MBP Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 010-101-002 | GST Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 010-101-003 | GST Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 011-101-002 | SNAP tag Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 012-101-002 | Halo Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 013-101-002 | mNeongreen Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 014-101-002 | TurboGFP Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 004-101-002 | c-His tag Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 004-101-003 | c-His tag Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 049-101-002 | mWasabi Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 017-101-002 | TagFP Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 025-101-002 | Rabbit IgG Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 025-101-003 | Rabbit IgG Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |

## Nanoselector 相关产品

| Code Number | Product Description | Applications | Size |
|---|---|---|---|
| 001-101-002 | Mouse IgG Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 001-101-003 | Mouse IgG Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 001-300-002 | Mouse IgG&Rabbit IgG Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 001-300-003 | Mouse IgG&Rabbit IgG Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 067-101-003 | Streptavidin Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 1mL(40 rxns) |
| 064-101-002 | V5 tag Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 064-101-003 | V5 tag Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 086-101-003 | Spycatcher Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 086-101-002 | Spycatcher Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 082-101-002 | StayGold/mBaojin Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 082-101-003 | StayGold/mBaojin Nanoselector Magnetic | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 020-101-002 | RFP Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 020-101-003 | RFP Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 023-101-003 | Human IgG Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 026-101-002 | tdTomato Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 026-101-003 | tdTomato Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 028-101-002 | mScarlet Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 028-101-003 | mScarlet Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 078-101-003 | Biotin Nanoselector Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 0.5mL(20 rxns) |
| 100-100-100 | Binding Control Nanoselector Agarose | IP,CHIP,MS,Purification | 1mL(40 rxns) |
| 100-100-200 | Binding Control Magnetic beads | IP,CHIP,MS,Purification | 1mL(40 rxns) |