

Mouse IgG1 (isotype control) Magnetic Beads

产品包装:

产品编号	产品名称	产品形式	包装规格 (V/V, 1/5)
HAK21190-250 ul	Mouse IgG1 (isotype control) Magnetic Beads	20% 磁珠悬液	250 uL
HAK21190-1 mL	Mouse IgG1 (isotype control) Magnetic Beads	20% 磁珠悬液	1 mL
HAK21190-5 mL	Mouse IgG1 (isotype control) Magnetic Beads	20% 磁珠悬液	5 mL
HAK21190-25 mL	Mouse IgG1 (isotype control) Magnetic Beads	20% 磁珠悬液	25 mL

产品描述:

Mouse IgG1 (isotype control)免疫磁珠采用 Recombinant Mouse IgG1 protein [PSH04-91], 与粒径为 10–37 μm 的琼脂糖磁珠通过共价偶联方式制备而成。

Mouse IgG1 (isotype control)免疫磁珠适用于常规免疫沉淀实验, 可用于检测与 mouse IgG1 发生非特异性结合的蛋白复合物, 常作为 Anti-Myc tag 免疫磁珠 (货号: HAK21044) 或 Anti-DYKDDDDK 免疫磁珠 (货号: HAK21011) 的阴性对照。该产品基于磁性吸附原理, 可实现快速、高效的分离, 无需离心操作, 从而简化实验流程。

产品性能:

产品以悬浮液形式提供, 其中 Mouse IgG1 同型对照免疫磁珠保存于含防腐剂的 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 中, 浓度为 20%。

辅助设备: 磁力架、离心管。

保存条件:

Mouse IgG1 (isotype control)免疫磁珠采用蓝冰运输, 建议在 2-8°C 条件下储存, 有效期为 2 年。请注意切勿在 -20°C 下冷冻保存, 否则将不可逆地破坏磁珠结构。

注意事项和免责声明

本产品仅限于科学研究使用, 不得用于临床诊断或治疗。

使用说明:

一、样品制备

建议将蛋白裂解液的 pH 值控制在 6.0 至 8.0 之间, 并将 NaCl 或 KCl 浓度调节至不低于 0.15 M, 以获得较佳实验效果。制备蛋白裂解液后, 需进行离心处理 (10,000–20,000 $\times g$, 15 min), 以去除会干扰蛋白结合的细胞碎片及微粒。若需进一步提升实验效果, 还可将蛋白裂解液通过 0.45 μm 或 0.22 μm 滤器进行过滤。

二、使用 Mouse IgG1 (isotype control)免疫磁珠进行免疫沉淀(IP)实验的阴性对照

以下为单个免疫沉淀 (IP) 反应的操作示例。若需进行多个 IP 反应, 请根据样品数量按比例增加试剂用量。建议每个 IP 反应 (以 1×10^6 细胞或 500 μL 裂解液为例) 使用与 IP 实验中所用的抗体磁珠等体积 (通常为 10–20 μL) 的同型 IgG 对照磁珠悬浮液。

1.磁珠重悬: 轻轻颠倒混匀磁珠悬浮液, 确保磁珠均匀分散。取适量体积移入合适的离心管中。为减少对磁珠的损伤, 建议剪切移液器吸头末端后再进行吸取。

2.去除储存液: 将离心管置于适配的磁力架上, 待磁珠完全吸附后, 吸除并弃去储存缓冲液。

3.磁珠清洗: 加入 10 倍于磁珠体积的 TBS 缓冲液, 轻柔重悬磁珠, 再次置于磁力架上吸附后弃去上清。重复洗涤共 3 次, 注意尽量去除洗涤液, 避免磁珠损失。若进行多个 IP 样本, 可合并洗涤所有磁珠, 洗涤后重新悬浮于 TBS 中, 再按样本数目均分磁珠。

分装后置于磁力架上吸附，弃去 TBS。

4.加入裂解液：向洗涤后的磁珠中加入 500 μ L 经预处理的细胞裂解液。

5.敷育结合：在轻柔摇荡（建议使用旋转混匀仪）条件下孵育 1 小时。为提升结合效率，可延长孵育时间至 4 $^{\circ}$ C 过夜。

6.去除未结合蛋白液：将离心管置于磁力架上吸附磁珠，使用细长吸头或套接吸头（如 1 mL 吸头套 200 μ L 吸头）小心吸弃上清，注意避免触及磁珠。

7.洗涤磁珠-蛋白复合物：加入 10 倍磁珠体积的 TBS 缓冲液，轻柔重悬磁珠后置于磁力架上吸附，弃去上清。重复该步骤共 3 次。

8.SDS-PAGE 上样缓冲液洗脱（变性洗脱法）：

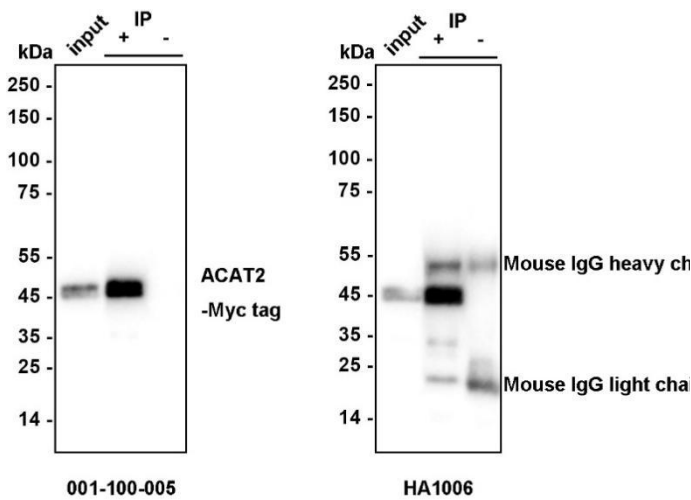
本方法为变性洗脱，所得蛋白样品适用于 SDS-PAGE 电泳或 Western Blot 检测。。

8.1 使用 1 \times PBS 将 5 \times SDS-PAGE 上样缓冲液稀释至 1 \times 工作浓度。

8.2 按每 10 μ L 原始磁珠体积加入 50 μ L 1 \times SDS-PAGE 上样缓冲液，于 95 $^{\circ}$ C 加热 5–10 分钟。

8.3 将反应管置于磁力架上至溶液澄清，取上清进行后续 SDS-PAGE 电泳或 Western Blot 检测。

四、结果展示



Immunoprecipitation of Myc-tag in 293T cell lysates expressing C-terminal Myc-tagged ACAT2

Myc-tagged proteins were immunoprecipitated from 0.2mg of lysate derived from 293T cells transfected with C-terminally Myc-tagged ACAT2 using Anti-Myc Magnetic Beads (HAK21044). Mouse IgG1 isotype control magnetic beads (HAK21190) were used as a negative control. Immunoprecipitates were analyzed by Western blot using the primary antibody HA601081 at a dilution of 1/10,000. Detection was performed with either Anti-Mouse IgG for IP Nano-secondary antibody (001-100-005, left) or Goat Anti-Mouse IgG-HRP (HA1006, right), each diluted 1/5,000 and incubated for 60 minutes at room temperature..

Lane 1: Input: lysate from 293T cells expressing C-terminal Myc-tagged ACAT2..

Lane 2: Immunoprecipitation with HAK21044 from lysate of 293T cells expressing C-terminal Myc-tagged ACAT2.

Lane 3: Immunoprecipitation with HAK21190 (instead of HAK21044) from the same lysate.

Blocking/Dilution buffer: 5% NFDM in TBST.