TagFP Nanoselector® 琼脂糖珠

产品货号：017-101-002

简介

TagFP Nanoselector® 琼脂糖珠是由一种抗TagFP(TagRFP/TagBFP)纳米抗体（VHH）与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 琼脂糖珠悬液结合 20 μg TagFP 重组蛋白
珠粒大小	~ 40μm
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® 琼脂糖珠

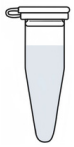
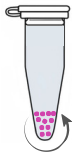
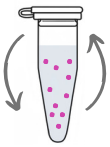
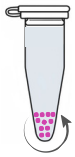
产品货号：017-101-002

AlpVHHs 临界点生物

产品规格

产品	规格
TagFP Nanoselector® 琼脂糖珠	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； 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； 裂解细胞并离心取上清； 混合 200 μL 上清样品和 300 μL dilution buffer
平衡琼脂糖珠		将 25 μL 琼脂糖珠悬浮液转移到 1.5 mL 的 EP 管中； 用 500 μL dilution buffer 平衡 3 次
结合蛋白		向琼脂糖珠中加 500 μL 细胞裂解物； 4℃ 上下旋转1 小时
洗琼脂糖珠		用 wash buffer 洗涤琼脂糖珠 3 次，每次 500 μL； 在最后一次洗涤步骤中，将琼脂糖珠转移到一个新 EP 管中
用 SDS Sample buffer 洗脱		80 μL 2X SDS sample buffer 重悬琼脂糖珠； 95℃ 以上沸水浴 5 分钟； 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，并从琼脂糖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）， MgCl2（ 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℃， 17,000x g 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） 。

琼脂糖珠平衡

1. 通过移液枪吹打或上下旋转 EP 管，重悬微珠。不要漩涡微珠！
2. 将 25 μL 的微珠悬浮液转移到 1.5 mL 的离心管中。
3. 加入 500 μL 预冷的稀释缓冲液。
4. 4℃， 2500x g 离心 5 分钟收集珠子；丢弃上清。

TagFP Nanoselector® 琼脂糖珠

产品货号：017-101-002

AlpVHHs 临界点生物

蛋白结合

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

洗涤

1. 在 4℃ 下 2500x g 离心 5 分钟，沉淀珠子。
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 重悬微珠。
5. 4℃， 2500x g 离心 5 分钟沉淀微珠，丢弃剩余的上清液。
6. 重复上述洗涤步骤（步骤 4 和 5）至少两次。
7. 在最后的洗涤步骤中，将微珠转移到新管中。

可选 ： 为了增加 wash buffer 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 重悬微珠。
3. 在 95℃ 以上沸水浴 5 分钟，从微珠上分离免疫复合物。
4. 4℃ ，2500x g 离心 2 分钟，沉淀珠子。
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. 4℃ ，2500x g 离心 5 分钟，沉淀微珠。
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)