

Rabbit IgG Nanoselector® 琼脂糖珠

产品货号: 025-101-002

简介

Rabbit IgG Nanoselector® 琼脂糖珠是由一种抗Rabbit IgG纳米抗体(VHH)与琼脂糖珠共价结合组成,主要用于免疫沉淀 Rabbit IgG抗体。与传统的protein A/G琼脂糖珠相比,Rabbit IgG Nanoselector® 琼脂糖珠具有更高的亲和力(KD<1nM),能 有效结合更多的Rabbit IgG抗体,是一种高效的结合Rabbit IgG研究工具。

特性

配体	抗Rabbit IgG的纳米抗体(VHH)
特异性	与Rabbit IgG抗体特异性结合
结合能力	每 10 μL 琼脂糖珠悬液结合 100 μg Rabbit lgG
珠粒大小	~ 40µm
储存缓冲液	20% 乙醇
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 % $\beta\text{-}$ 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。



Rabbit IgG Nanoselector® 琼脂糖珠

产品货号: 025-101-002



产品规格

产品	规格
Rabbit IgG Nanoselector® 琼脂糖珠	20 个反应(500 μL 悬浮液)
Rabbitige Natiosetectol 场面临场	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
一抗结合		将500 uL细胞裂解液转移至新的1.5 mL EP管中,加入2-4 ug一抗/样本;4℃上下旋转过夜
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		将平衡好的琼脂糖珠加入一抗结合管中;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	I FT B	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

AlpVHHs 临界点生物

Rabbit IgG Nanoselector® 琼脂糖珠

产品货号: 025-101-002

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 106-107 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 DNasel(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° C, 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 μ L 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 μ L 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) 。

一抗结合

- 1. 将500 uL细胞裂解液转移至新的1.5 mL EP管中, 加入2-4 ug一抗/样本;
- 2. 4℃上下旋转过夜。

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。





Rabbit IgG Nanoselector® 琼脂糖珠

产品货号: 025-101-002



蛋白结合

- 1.将平衡好的琼脂糖珠加入一抗结合管中;
- 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℃, 2500xg 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。



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)
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)
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)