

HA Tag 免疫沉淀试剂盒

HA Tag Immunoprecipitation Kit

产品描述

TargetMol 的 HA Tag 免疫沉淀磁珠可特异性地与带有 HA 标签的蛋白结合,可以用于蛋白质、蛋白质复合物、蛋白质核酸复合物和其他抗原的免疫沉淀 (IP)。免疫沉淀磁珠试剂盒配有经过优化的预制缓冲液,为免疫沉淀实验提供了最佳的反应条件,增强了实验的稳定性。本品适用于细胞裂解物、细胞分泌上清、血清、腹水等来源的抗原样品。

产品特点

- 非特异性吸附低
- 操作灵活、简便
- 高效率、高产量、低消耗
- 实验结果可靠、重复性高

产品组成

| 产品编号 | 产品名称 | 产品包装 |
|--------|---|-------|
| C0118B | HA Tag Immunomagnetic Beads | 1 mL |
| C0124 | Immunomagnetic Beads Cell Lysis Buffer | 20 mL |
| C0125 | Immunomagnetic Beads Washing Buffer (10×) | 20 mL |
| C0126 | Immunomagnetic Beads Acidity Elution Buffer | 4 mL |
| C0127 | Immunomagnetic Beads Neutralization Buffer | 1 mL |

产品信息

| HA Tag 免疫沉淀磁珠 | |
|---------------|------------------------|
| 基质 | 硅基磁珠 |
| 粒径 | 200 nm |
| 磁珠浓度 | 10 mg/mL |
| 结合能力 | ≥ 0.4 mg HA 标签蛋白/mL 磁珠 |
| 配体 | 鼠源抗 HA 单克隆抗体 |
| 应用推荐 | IP, Co-IP |

操作说明

1. 细胞裂解液制备

使用 Cell Lysis Buffer 处理细胞样品, 按照标准步骤制备细胞裂解液, 置于冰上备用, 或于 -20 °C 长期保存。

2. 磁珠预处理

1) 将免疫沉淀磁珠用漩涡振荡器振荡 1 min, 使磁珠重新悬浮, 取 25 μ L 磁珠悬液放入 1.5 mL EP 管中。

2) 用蒸馏水将 Washing Buffer (10 \times) 稀释为 1 \times , 使用 Washing Buffer (1 \times) 进行后续实验。向 EP 管中加入 500 μ L Washing Buffer 进行洗涤, 温和翻转 EP 管数次, 使磁珠重新悬浮。将 EP 管放入磁性分离器, 静置 1 min, 进行磁性分离, 吸去上清液, 取下 EP 管。重复上述洗涤步骤 2 次。

3. 免疫沉淀步骤

1) 向 EP 管中加入 500 μ L 制备好的细胞裂解液, 将 EP 管放在旋转混合仪上, 在 37 °C 下旋转混合 30 min。如结合力较弱, 可在室温下孵育 1 h, 或在 4 °C 下孵育过夜。

2) 孵育结束后, 进行磁性分离, 弃去或保存上清以供后续分析。

3) 向 EP 管中加入 500 μ L Washing Buffer 进行洗涤。进行磁性分离, 吸去上清液, 取下 EP 管, 重复洗涤磁珠 3 次。

4. 抗原洗脱

提供以下几种抗原洗脱方案, 用户可根据后续检测的需要选择不同的洗脱方法。

1) 变性洗脱法: 此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。向 EP 管中加入 100 μ L SDS-PAGE Loading Buffer (自备), 混合均匀, 95 °C 加热 5 min。然后进行磁性分离或者离心 (室温, 13000 g, 10 min), 收集上清液, 进行 SDS-PAGE 检测。

2) 中性洗脱法: 向 EP 管中加入 50 μ L HA Peptide Elution Buffer (PBS, 1 mg/mL HA peptide (TP1276), pH 7.4), 置于旋转混合仪上在 37 °C 孵育 5-10 min (低于 37 °C 时需适当延长孵育时间)。然后进行磁性分离或者离心, 收集上清液。为提高抗原回收率, 可重复以上步骤。

3) 酸性洗脱法: 向 EP 管中加入 100 μ L Acidity Elution Buffer, 置于旋转混合仪上在 37 °C 孵育 5-10 min。然后进行磁性分离或者离心, 收集上清液。如需中和酸性洗脱液, 可向 100 μ L 洗脱液中加入 50 μ L Neutralization Buffer, 调整 pH 至中性。

保存条件

C0124: -20 °C, 2 年。 其余试剂: 4 °C, 2 年。

注意事项

1. 避免冷冻磁珠。磁珠应保存在储存溶液中, 防止干燥。
2. 为了减少磁珠的损失, 每次磁性分离的时间不应少于 1 min。
3. 在从磁珠保存管中取出磁珠之前, 应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
4. 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管, 以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
5. 操作者可根据实际需求, 利用抗体结合反应步骤和抗原结合反应步骤中收集的上清液, 检测抗体、抗原与磁珠的结合情况。
6. 在 IP 实验中, 不同类型的抗体和抗原结合的亲和力会有所不同。如果使用本说明书提供的缓冲体系未能获得理想的实验结果, 操作者可以自行筛选和配制缓冲液进行实验。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

