



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

Anti-HA 免疫磁珠

货号: R32139

规格: 1ml

保存温度: 2-8℃保存（禁止冷冻，试剂管竖立向上），有效期 24 个月。

产品简介:

Anti-HA 免疫磁珠采用先进的纳米表面生物技术，将高质量的鼠源单克隆 Anti-HA 抗体高密度共价偶联在超顺磁性纳米微球表面，是纯化 HA 标签蛋白的理想工具。与市场上同类产品相比，本产品具有更大的特异性表面区域，磁珠使用量更少，非特异性结合率低，使用起来简便高效，可有效避免长时间操作造成目标蛋白被水解，确保了目标蛋白的活性及蛋白复合物的完整性。

本产品可应用于多种样品中抗原的免疫沉淀反应和少量蛋白质的纯化，细胞裂解液、细胞分泌液上清、血清、动物腹水以及其它免疫抗原等均可适用。

产品参数:

抗体类型: 鼠源 抗 HA 单克隆抗体

磁珠粒径: 200 nm

磁珠浓度: 10 mg/mL

结合能力: ≥ 0.4 mg HA-tagged fusion protein/mL of bead

适用范围: IP, Co-IP, GFP 标签蛋白的少量纯化等

自备试剂:

结合/洗涤缓冲液: 50 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.1%~0.5% detergent(TritonX-100, Tween 20 or NP40), pH 7.5

洗脱缓冲液: 0.1 M~0.2 M Glycine, 0.1%~0.5% detergent, pH 2.5~3.1(or 0.1 M citric acid, 0.1%~0.5% detergent, pH 2.5~3.1)

中和缓冲液: 1 M Tris, pH 8.0

操作步骤:

样本处理:

1. 根据样品种类选择相应的处理方法:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

A. 悬浮细胞: 离心收集细胞 (4°C , $500\times\text{g}$, 10 min), 弃上清后称重, 按每毫克细胞 $50\ \mu\text{L}$ 的比例用 $1\times\text{PBS}$ 洗涤 2 次; 按每毫克细胞 $5\sim 10\ \mu\text{L}$ 的比例加入结合 / 洗涤缓冲液, 同时加入蛋白酶抑制剂, 混匀后置于冰上孵育 10 min; 离心收集上清液 (4°C , $14,000\times\text{g}$, 10 min), 置于冰上备用 (或置于 -20°C 长期保存);

B. 贴壁细胞: 移去培养基, 按每 1.0×10^5 个细胞 $150\ \mu\text{L}$ 的比例用 $1\times\text{PBS}$ 洗涤两次; 用细胞刮刀刮落细胞, 收集至 $1.5\ \text{mL}$ 离心管内, 按每 1.0×10^5 个细胞 $20\sim 30\ \mu\text{L}$ 的比例加入结合 / 洗涤缓冲液, 同时加入蛋白酶抑制剂, 混匀后置于冰上孵育 10 min; 离心收集上清液 (4°C , $14,000\times\text{g}$, 10 min), 置于冰上备用 (或置于 -20°C 长期保存);

C. 大肠杆菌: 离心收集大肠杆菌 (4°C , $12,000\times\text{g}$, 2 min), 弃上清后称重, 按每克菌体 (湿重) $10\ \text{mL}$ 的比例用 $1\times\text{PBS}$ 洗涤 2 次; 按每克菌体 (湿重) $5\sim 10\ \text{mL}$ 的比例加入结合 / 洗涤缓冲液, 同时加入蛋白酶抑制剂, 重悬菌体, 超声裂解细胞, 离心收集上清 (4°C , $12,000\times\text{g}$, 10 min)。

磁珠预处理:

2. 用移液器轻柔吹打 Anti-HA 免疫磁珠, 使其充分混悬, 取 $25\ \mu\text{L}$ 磁珠悬液置于 $1.5\ \text{mL}$ 离心管中;

3. 加入 $500\ \mu\text{L}$ 结合 / 洗涤缓冲液, 用移液器轻柔吹打重悬磁珠, 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上后, 吸弃上清;

4. 重复步骤 3 一次;

样品的结合:

5. 在预处理后的磁珠中加入 $500\ \mu\text{L}$ 步骤 1 制备好的样品, 置于翻转混合仪上孵育 (常温 1 h, 4°C 4~6 h 或过夜);

6. 将上述混合液置于磁力架上静置 1 min, 然后把上清液转移到新的离心管中备用 (上清液可用于检测 HA 标签蛋白是否存在残留), 原离心管中剩余的即为蛋白 - 磁珠复合物;

洗涤:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyyssw@sina.com

7. 向步骤 6 所得的 蛋白 - 磁珠复合物 中加入 500 μL 结合 / 洗涤缓冲液，用移液器轻柔吹打重悬，接着在磁力架上静置 1 min 后，吸弃上清；

8. 重复步骤 7 大约三次，直至洗涤后的上清液 OD280 小于 0.05 为止；

注意：如上清液的 OD280 仍大于 0.05，则适当增加洗涤次数。

洗脱：

9. 本操作说明书提供以下两种抗原洗脱方案，操作者可根据后期检测的需要选择不同的抗原洗脱方法。

变性洗脱：此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。向步骤 8 洗涤后的蛋白 - 磁珠复合物中加入 80~100 μL 1 \times SDS-PAGE 上样缓冲液（由 5 \times 稀释为 1 \times ）混合均匀，100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min。待冷却后，将离心管在磁力架上静置 1 min，待磁珠吸附到离心管侧壁上后，收集上清，进行 SDS-PAGE 检测。

非变性洗脱：此方法洗脱的样品保持原有的生物活性，可用于后期功能分析。向步骤 8 洗涤后的蛋白 - 磁珠复合物 中加入 50~100 μL 洗脱缓冲液，室温孵育 5~10 min；将离心管在磁力架上静置 1 min，待磁珠吸附到离心管侧壁上后，收集上清液至新的离心管，每 100 μL 洗出液中加入 10 μL 中和缓冲液将洗脱产物 pH 调节至中性，用于后期功能分析。

注意事项：

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
2. 本产品仅限科研使用。