

产品信息:

品牌	货号	产品名称	规格	保存温度
KEL Biotech	KC1368-001	Anti-mCherry Nanobody Agarose beads	1ml/50T	4℃
KEL Biotech	KC1368-500ul	Anti-mCherry Nanobody Agarose beads	500ul/25T	4℃

产品描述

Anti-mCherry Nanobody Agarose Beads (以下称 anti-mCherry beads) 是将抗mCherry的 纳米抗体共价偶联到琼脂糖珠上, 用于抓取哺乳动物、植物、细菌、酵母、昆虫等多种生物的细胞提取物中的含mCherry 标签的蛋白及与其紧密相互作用的蛋白。

产品属性

珠子直径: ~45 μ m (4%交联琼脂糖珠)

储存液: 1xPBS, 含20% 乙醇和0.03% NaN₃

结合能力: 每20 μ L Anti-mCherry Beads (悬浮液) 结合15-20 μ g 含mCherry标签的融合蛋白

配体: 抗mCherry纳米抗体

结合时间: 只需要与细胞裂解液孵育结合1 h 左右

反应性: 与mCherry、DsRed等融合蛋白及与其紧密相互作用的蛋白结合

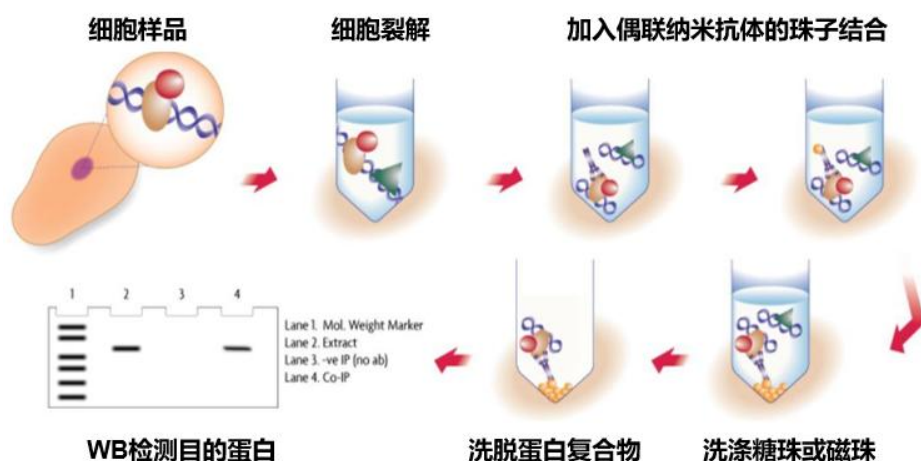
产品应用

可用于免疫沉淀 (IP) /免疫共沉淀 (CoIP)、染色质免疫沉淀 (ChIP) /RNA 结合蛋白免疫沉淀 (RIP)、酶活性测定、质谱分析 (MS) 等;

产品特性

保存条件: 可在 4℃保存 1 年, 避免干燥和反复冻融, 冰袋运输。

实验原理



操作说明:

收集细胞:

每个免疫沉淀反应大约使用 10^6 – 10^7 的哺乳动物细胞 (约一个 10 厘米培养皿) 表达 mCherry 的融合蛋白。吸出生长培养基、向培养皿中加入 2 毫升预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次, 利用细胞刮或胰酶消化的方法收集贴壁细胞, 细胞转移到离心管, 500 g 离心 3–5 分钟并丢弃上清液。

细胞裂解:

1. 用 1.0 mL 预冷的裂解缓冲液重悬细胞, 在裂解缓冲液中加入蛋白酶抑制剂。对于膜蛋白或核/染色质蛋白, 可使用 RIPA 裂解液, 或普通 IP 裂解液结合超声破碎细胞的方法。
2. 把离心管放置在冰上 30 分钟, 可以每 10 分钟充分吹打一次, 或者在 4 度旋转混合仪上裂解。
3. 细胞裂解产物在 4℃, 20,000 g 条件下离心 15 分钟, 转移裂解产物到一个新的预冷管中, 丢弃沉淀。

注意: 此时细胞裂解产物可以放在 -80℃ 进行长期储存。

平衡珠子:

4. 振荡混匀 mCherry Nanobody Agarose Beads, 吸取 20 μ l slurry 到 500 μ l 预冷的裂解缓冲液中, 在 4 °C, 2,500 g 条件下离心 3 分钟, 丢弃上清液。(此步骤可选, 并建议吸取 20 μ l 珠子悬液时剪掉枪头的前端)

结合蛋白:

5. 将细胞裂解产物加入到平衡的珠子中 (如果未做第 4 步, 可在细胞裂解产物中直接加入 20 μ l 珠子悬液), 在 4 °C 冷柜中的旋转混合仪上结合 1 h, 也可以根据需要延长结合时间。如果需要, 保存 50 μ l 的裂解产物作为 input 进行免疫印迹分析。
6. 在 4 °C, 2,500 g 条件下离心 3 分钟, 丢弃上清液。

清洗珠子:

7. 用 1.0 mL 预冷的裂解缓冲液中洗涤珠子, 在 4 °C 旋转混合洗涤 5 min, 在 4 °C, 2,500 g 条件下离心 3 分钟, 丢弃上清液并重复洗涤 2 次。(可选: 在第二次洗涤的步骤中增加盐浓度到 500 mM)。

洗脱蛋白:

方法一:

8. 加入 40 μ l 2X SDS-sample buffer 重悬珠子。在 95℃ 条件下加热 10 min, 把免疫沉淀复合物从珠子上游离出来, 然后在 4 °C, 2,500 g 条件下离心 3 分钟收集上清, 进行免疫印迹分析。

方法二:

9. 加入 50 μ l 0.2 M pH2.5 的甘氨酸洗脱结合的蛋白, 建议孵育时间 30 秒, 并不断混匀, 随后离心, 转移上清液到新管中, 为了中和酸性的甘氨酸, 需添加 5 μ l 1.0 M Tris (pH10.4)。注意: 为了提高洗脱效率可以重复这一步。

相关产品:

货号	产品名称	产品规格	储存温度
KC1360-001	Anti-GFP Nanobody Agarose Beads	1ml/支	4℃
KC1360-500ul	Anti-GFP Nanobody Agarose Beads	500ul	4℃
KC1369-001	Anti-GFP Nanobody Magnetic beads	1ml	4℃
KC1369-500ul	Anti-GFP Nanobody Magnetic beads	500ul	4℃
KC1370-001	Anti-Flag Nanobody Magnetic beads	1ml	4℃
KC1370-500ul	Anti-Flag Nanobody Magnetic beads	500ul	4℃
KC1365-001	Anti-Flag Nanobody Agarose Beads	1ml	4℃
KC1365-500ul	Anti-Flag Nanobody Agarose Beads	500ul	4℃
KC1366-001	Anti-HA Nanobody Agarose Beads	1ml	4℃
KC1366-500ul	Anti-HA Nanobody Agarose Beads	500ul	4℃
KC1371-001	Anti-HA Nanobody Magnetic beads	1ml	4℃
KC1371-500ul	Anti-HA Nanobody Magnetic beads	500ul	4℃
KC1367-001	Anti-Myc Nanobody Agarose beads	1ml	4℃
KC1367-500ul	Anti-Myc Nanobody Agarose beads	500ul	4℃
KC1372-001	Anti-Myc Nanobody Magnetic beads	1ml	4℃
KC1372-500ul	Anti-Myc Nanobody Magnetic beads	500ul	4℃
KC1368-001	Anti-mCherry Nanobody Agarose beads	1ml	4℃
KC1368-500ul	Anti-mCherry Nanobody Agarose beads	500ul	4℃
KC1373-001	Anti-mCherry Nanobody Magnetic beads	1ml	4℃
KC1373-500ul	Anti-mCherry Nanobody Magnetic beads	500ul	4℃
KC1374-001	Protein A/G Magrose Beads	1ml	4℃
KC1374-500ul	Protein A/G Magrose Beads	500ul	4℃