

### 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°C
KEL Biotech	KC1368-500ul	Anti-mCherry Nanobody Agarose beads	500ul/25T	4°C

### 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  $\mu$ 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  $\mu$ L Anti-mCherry Beads (悬浮液) 结合15–20  $\mu$ 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

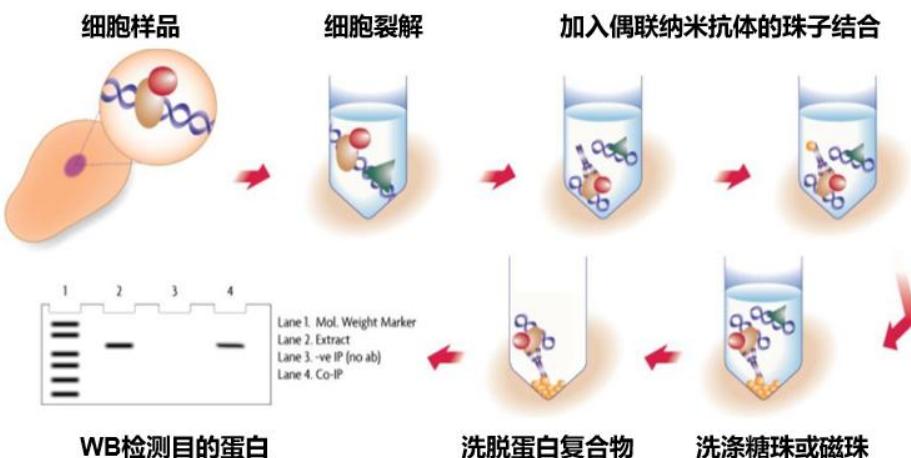
可用于免疫沉淀 (IP) /免疫共沉淀 (CoIP) 、染色质免疫沉淀 (ChIP) /RNA 结合蛋白免疫沉淀 (RIP) 、

酶活性测定、质谱分析 (MS) 等;

### 产品特性

保存条件: 可在 4°C 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°C，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°C进行长期储存。

### **平衡珠子:**

4. 振荡混匀 mCherry Nanobody Agarose Beads，吸取 20  $\mu$ l slurry 到 500  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ l 2X SDS-sample buffer 重悬珠子。在 95°C 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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℃