

## 产品信息

品牌	货号	产品名称	规格
KEL Biotech	KC1373-001	Anti-mCherry Nanobody Magnetic beads	1ml
KEL Biotech	KC1373-500ul	Anti-mCherry Nanobody Magnetic beads	500ul

## 产品描述

偶联 anti-mCherry 纳米抗体的磁性琼脂糖珠用于免疫沉淀 mCherry 融合蛋白。

## 产品优势

- 👉 没有普通抗体的轻链和重链；
- 👉 高亲和力：解离常数达到 nM-pM 级别；
- 👉 高载量：20  $\mu$ l 的 slurry 可以结合 15-20  $\mu$ g mCherry 蛋白；
- 👉 较短的孵育时间，结合 5-30 min 即可；

## 应用范围

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、质谱分析等；

## 特异性

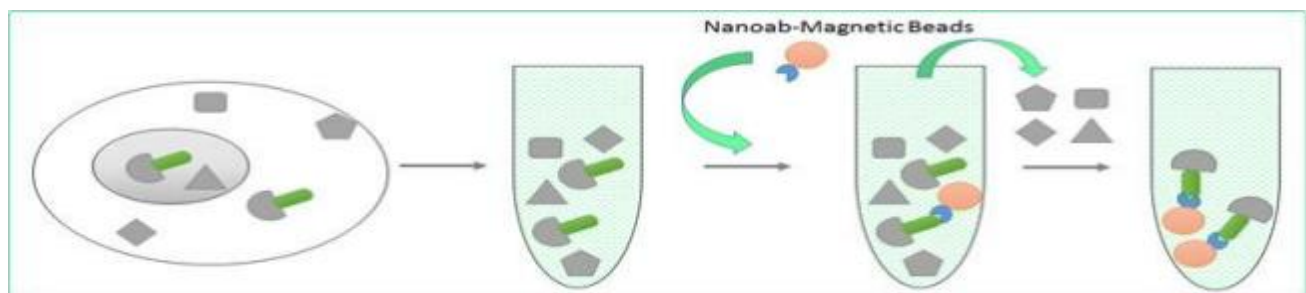
可以结合 mCherry, DsRed 等红色荧光蛋白。

## 产品特性

存储缓冲液：PBS (含有 20%乙醇)。

保存条件：可在 4°C 保存半年，-20 度保存 1 年，避免高速离心，干燥和反复冻融。

## 实验原理



## 实验步骤:

### 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 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 (自备)。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 Anti-mCherry Nanoabody Magnetic beads, 吸取 20  $\mu$ l slurry 到 500  $\mu$ l 预冷的裂解缓冲液中, 在磁力架上分离磁珠直到上清变成清亮的状态, 丢弃上清液。(此步骤可选, 并建议吸取 20  $\mu$ l slurry 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 Anti-mCherry Nanoabody Magnetic beads 中 (如果未做第 4 步, 可在细胞裂解产物中直接加入 20  $\mu$ l slurry), 在 4 °C 冷柜中的旋转混合仪上结合 5-30 min。如果需要, 可以延长结合时间, 并保存 50  $\mu$ l 的裂解产物作为 input 进行免疫印迹分析。
6. 在磁力架上分离磁珠直到上清变成清亮的状态, 丢弃上清液。

### 清洗珠子:

7. 用 1.0 mL 预冷的裂解缓冲液中重悬 Anti-mCherry Nanoabody Magnetic beads, 在 4 °C 旋转混合洗涤 5 min, 在磁力架上分离磁珠直到上清变成清亮的状态, 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 20  $\mu$ l 2X SDS-sample buffer 重悬 mCherry-Nanoab-Magnetic Beads。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. 替代步骤 8 的可选步骤: 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℃

