



Agarose Beads IP/CO-IP Kit (Mouse)

货号: BD0080 规格: 10T/25T/50T

产品描述:

本试剂盒包含高质量的 Protein A/G 琼脂糖珠及经过优化验证的免疫沉淀必要试剂, 使 IP/CO-IP 实验更加简单、便捷、高效。其中构象特异性二抗, 有效避免了抗体轻重链的影响。Protein A/G 磁珠适合于免疫沉淀所有 Protein A 磁珠和 Protein G 磁珠单独可以免疫沉淀的抗体, 包括 human IgG1、IgG2、IgG3、IgG4, mouse IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3, rat IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG2c, 以及 rabbit、goat 等多克隆抗体。

试剂盒含有小鼠 IgG Isotype Control, 更适用于小鼠 IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3 和 IgA 免疫沉淀。也可另外选购小鼠抗体相同亚型 Isotype Control (货号 NCP0394: Mouse IgG1、NCP0395: Mouse IgG2a、NCP0396: Mouse IgG3、NCP0419: Mouse IgG2b)。试剂盒可搭配巴傲得蛋白酶抑制剂 (货号: BD0033 或 BD0075) 和裂解液产品 (货号: BD0031 或 BD0090; CO-IP 建议用 BD0090) 使用。

产品组分:

- A: 10X Wash Buffer (Dilute 10 times by water before use)
- B: Protein A/G agarose Beads
- C: Mouse IgG kappa Antibody Isotype Control
- D: SDS-PAGE Loading Buffer (5X)
- E: Anti-Mouse-HRP for IP (dilution ratio 1:500~1:2000)
- F: Acid Elution Buffer
- G: Neutralization Buffer

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。

操作步骤:

1. 抗原和抗体结合: 在离心管中, 将细胞裂解样品与抗体 (同时设置同型对照组: 抗体换成 Mouse IgG kappa Antibody Isotype Control) 混合 4℃ 孵育过夜。推荐抗体用量为 2~10ug, 每个免疫沉淀反应推荐的细胞裂解液总蛋白量为 100~500ug, 体积不足建议用裂解缓冲液

或 1X Wash Buffer 将样品体积调整至 300 μ L。细胞裂解液与抗体用量可根据指标具体情况调整。

2. 平衡珠子: 将 Protein A/G Agarose Beads 颠倒数次, 保证 Beads 完全混匀, 取 20-50 μ L (根据抗体量调整) 的 Beads 悬浮液, 转移至离心管中, 1000r 离心 3min, 丢弃上清液。加入 500 μ L 预冷的 1X Wash Buffer, 1000r 离心 3min, 丢弃上清液。重复洗涤 2 次。

2. 结合蛋白: 将 Beads 加入第 1 步的细胞裂解液与抗体混合液中, 在旋转混合仪上室温结合 2h (具体时间根据结合效果调整)。1000r 离心 3min 分离, 吸取并保留上清液, 作为流穿样品, 用于后续检测。

3. 清洗珠子: 用 1.0 mL 预冷的 1X Wash Buffer 液洗涤 Beads, 1000r 离心 3min 分离, 丢弃上清液, 重复洗涤 3 次及以上。

4. 洗脱蛋白:

方法一:

加入 Beads 四倍体积的 1X Wash Buffer 和 Beads 体积等量的 SDS-PAGE Loading Buffer (5X) 重悬 Beads。在 95℃ 条件下加热 10min, 把免疫沉淀复合物从 Beads 上游离出来, 然后在 4℃, 2500g 条件下离心 3 分钟收集上清, 进行免疫印迹分析。

方法二:

加入 50 μ L Acid Elution Buffer 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 Neutralization Buffer。注意: 为了提高洗脱效率可以重复这一步。

5. WB 检测: 上样、电泳、转膜、封闭、孵育一抗、洗膜、孵育 Anti-Mouse-HRP for IP 二抗、洗膜、曝光。

声明:

产品仅限于实验室研究, 请勿用于临床检测治疗。

Bioworld Technology, Inc.

Add: 1660 South Highway 100, Suite 500 St. Louis Park, MN 55416, USA.

Email: info@bioworld.com

Tel: 6123263284

Fax: 6122933841

Bioworld technology, co. Ltd.

Add: No 9, weidi road Qixia District Nanjing, 210046, P. R. China.

Email: info@biogot.com

Tel: 0086-025-68037686

Fax: 0086-025-68035151



PRODUCT DATA SHEET

Bioworld Technology, Inc.

Bioworld Technology, Inc.

Add: 1660 South Highway 100, Suite 500 St. Louis Park,
MN 55416, USA.

Email: info@bioworld.com

Tel: 6123263284

Fax: 6122933841

Bioworld technology, co. Ltd.

Add: No 9, weidi road Qixia District Nanjing, 210046,
P. R. China.

Email: info@biogot.com

Tel: 0086-025-68037686

Fax: 0086-025-68035151