

Anti-Myc 免疫磁珠

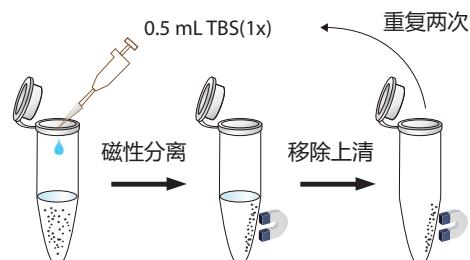
产品描述:

Anti-Myc 免疫磁珠由高质量的鼠源 IgG1单克隆抗体与羟基磁珠共价偶联制备，具有较高的Myc标签融合蛋白加载容量（至少为0.6 mg protein/mL）以及非特异结合低的特点，可用于蛋白质免疫共沉淀和少量蛋白质的纯化。

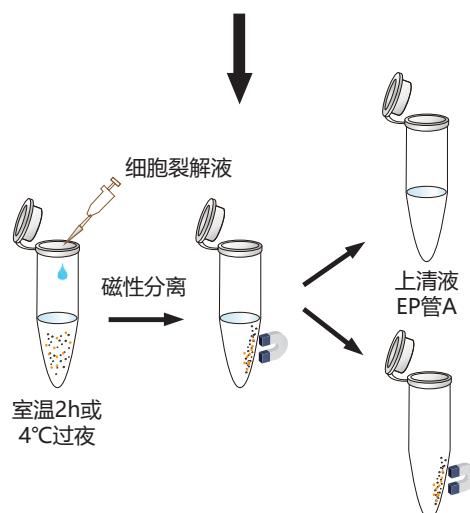
储存条件:

可于2-8°C储存2年。避免冻融或离心磁珠。

实验方案



磁珠的准备



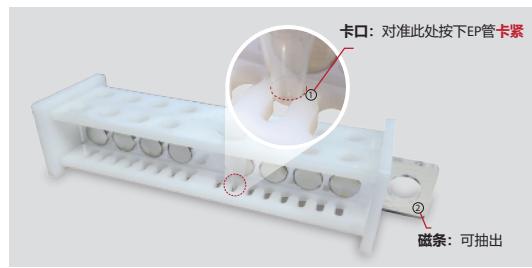
样品的结合



磁珠预处理

- 用移液枪轻柔吹打重悬Anti-Myc免疫磁珠，转移20 μL磁珠悬液到新的离心管中。
- 加入500 μL TBS (50 mM Tris HCl, 150 mM NaCl, pH 7.4)，用移液枪轻柔吹打重悬磁珠，磁力架上静置10 sec后，去除上清，重复上述步骤两次。

注意：多个样品时，可磁珠预处理后再分装到各个反应管中。



样品的结合

- 在上述沉淀中加入200 μL细胞裂解液，用移液枪轻柔吹打重悬磁珠，然后室温孵育2 h或者4 °C条件下过夜。
- 磁力架上静置10 sec后，将上清液转移到新的离心管中备用（上清液可用于检测 Myc-tag 蛋白是否存在残留）。

注意：结合过程中，磁珠可能会出现聚团或呈片状，属于正常现象，不会影响实验结果。

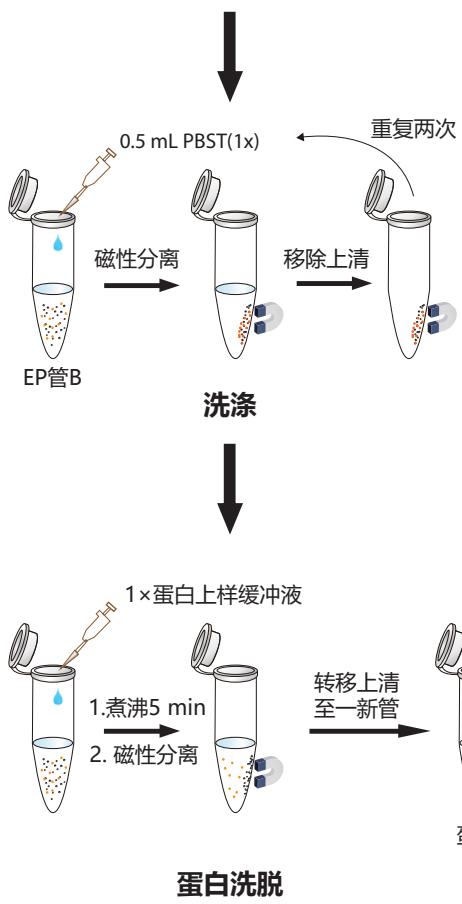
接下一页



订购 & 咨询

Tel: 400-668-6834

Email: info@selleck.cn



洗涤

5、向上述沉淀中加入500 μ L PBST (NaCl 136.89 mM; KCl 2.67 mM; Na₂HPO₄ 8.1 mM; KH₂PO₄ 1.76 mM; 0.5% Tween20)，用手轻敲或轻柔地吹打重新分散磁珠，然后上下翻转样品5 min。磁性分离后移除上清。

6、重复上述步骤两次。如遇到非特异性杂蛋白去除不干净的情况，请延长清洗时间、增加清洗次数或适当增加清洗液中去垢剂的含量。

蛋白洗脱

根据下游用途选择不同的洗脱方法，进行免疫共沉淀可直接进行7-8步；进行蛋白纯化可根据后续实验，选择低pH洗脱（9-10步）。

变性洗脱（适用于利用anti-Myc beads免疫磁珠进行免疫共沉淀实验）：

- 对于直接检测目的蛋白的情况，在上述所得沉淀中加入50 μ L 1×蛋白上样缓冲液，煮沸5 min，冷却至室温并在磁力架上静置10 sec。
- 取上清进行SDS-PAGE检测。

低pH洗脱（适用于利用anti-Myc beads免疫磁珠进行蛋白纯化实验）：

- 将0.1 M glycine HCl (pH=3)洗脱液加入步骤6中的产物中，洗脱液体积为磁珠使用量的5倍，摇床孵育洗脱5 min，洗脱时间不得超过20 min。
- 将上述产物进行磁力分离，取洗脱产物立即加入1 M Tris (pH=8.0)进行中和，并调节pH直至中性。

常见问题指南：

常见问题	可能的原因	建议方法
高的背景条带	蛋白非特异结合到抗体，磁珠或EP管上	选择合适的裂解液、洗涤液去除非特异吸附的蛋白；在最后一次洗涤前，转移整个样品到新的EP管中然后进行磁性分离。
	洗涤次数不够	增加洗涤的时间和次数。（洗涤后的上清液OD280值应小于0.05）
无蛋白条带	Myc标签蛋白没有表达	确保目的蛋白带有Myc标签；制备新鲜的裂解液；使用恰当的蛋白酶抑制剂。
	孵育时间不足	增加孵育时间。
	样品中存在干扰物质	裂解液中存在高浓度的DTT, 2-mercaptoethanol或者其他的还原剂。



订购 & 咨询

Tel: 400-668-6834

Email: info@selleck.cn