

Nanoselector 琼脂糖免疫沉淀实验方案

华安生物的 Nanoselector 技术由我们的重组高亲和力纳米抗体与琼脂糖珠共价偶联组成。我们的尖端纳米抗体是仅由重链组成的骆驼抗体, 其中靶标识别模块由单个可变域组成。它们是最小的功能性抗原结合片段, 不含轻链。重组高亲和力纳米抗体消除了批次间的差异。

Nanoselector IP 实验方案

可以在此处找到所有参考解决方案的配方。

样品制备

- 细胞收获和细胞裂解应在冰上操作。为了防止蛋白质降解, 请在裂解缓冲液中添加蛋白酶抑制剂。对于一次免疫沉淀反应, 我们建议使用大约 $10^6 - 10^7$ 个细胞。
- 将细胞沉淀重悬于 500 μL 冰冷的裂解缓冲液中。
- 在冰上孵育 30 分钟, 每十分钟重复搅动一次。
- 4°C、17,000xg 离心 10 分钟。将上清液转移至预冷的 EP 管中。如有必要, 留出 50uL 稀释裂解液以供后续分析。

磁珠平衡

- 通过上下吹打或倒置管子轻轻地重新悬浮磁珠。不要有涡旋。
- 将 25 μL 珠浆转移至 1.5 mL 反应管中。
- 4°C、2,500xg 离心 5 分钟。
- 丢弃上清液。

蛋白质结合

- 将稀释的细胞裂解液添加到平衡的磁珠中。
- 4°C 上下旋转 1 小时。
- 4°C、1,000xg 离心 5 分钟。如有必要, 留出 50uL 稀释裂解液用于进一步分析。
- 小心吸出并丢弃上清液。
- 将磁珠重悬于 500 μL 洗涤缓冲液中。
- 4°C、1,000xg 离心 5 分钟, 小心吸出并丢弃上清液。
- 将磁珠重悬于 500 μL 洗涤缓冲液中, 重复离心和洗涤步骤两次。
- 在最后一次重悬期间, 将磁珠转移到新管中。

洗脱

- 小心吸出并丢弃上清液。
- 将磁珠重新悬浮在 80 μL 2x SDS 样品缓冲液中。
- 95°C 加热 5 分钟, 使免疫复合物从磁珠上解离。
- 4°C、2,500xg 离心 2 分钟。

- 通过 SDS-PAGE 分析上清液。

仅用于研究应用，不可用于诊断或治疗用途。