

## Biolinkedin® Anti-Myc 磁珠 ( G2 )

### 包装清单

名称	货号	包装
Anti-Myc 磁珠( G2 )	L-1102	1mL
	L-1102A	5mL

### 产品概述

Biolinkedin® Anti-Myc 磁珠( G2 )是粒径为 200nm 的纳米磁珠表面上共价结合了大量的高质量鼠源抗 Myc 单克隆抗体, 纳米级磁珠提供的超大比表面积, 具有更多的结合位点, 磁珠使用量更少, 非特异性吸附率低。本产品广泛应用于细胞裂解物、细胞分泌上清、血清、腹水等样品中带有 Myc 标签融合蛋白的免疫沉淀 ( IP ) 或免疫共沉淀 ( Co-IP )。由于采用磁性分离, 使得每次 IP 和 Co-IP 可以节省 40% 的时间。

### 产品特性

基质	硅基磁珠
配体	鼠源抗 Myc 单克隆抗体 ( G2 )
粒径	200nm
磁珠浓度	10mg/mL
结合能力	≥0.5mg Myc 标签融合蛋白/mL 磁珠
适用范围	IP, Co-IP 等
保质期	在 2~8°C 稳定保存两年

### 操作流程

**注意：缓冲液自行准备或直接购买我司 IP 试剂盒。**

#### 贴壁细胞样品：

1. 移去培养基, 用 PBS 洗细胞两次。
2. 收集细胞至 1.5mL EP 管内, 按比例加入 IP Lysis/Wash Buffer, 同时加入 PMSF 等相应的抑制剂, 混匀后置于冰上静置 5~20min ( 期间混匀几次 )。
3. 4°C, 12000~16000xg, 10min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 ( 或置于 -80°C 长期保存 )。

#### 培养皿 IP Lysis/Wash Buffer 推荐使用体积：

培养皿大小/表面积	IP Lysis/Wash Buffer 体积
100 mm x 100 mm	500~1000μL
100 mm x 60 mm	100~300μL
6 孔板	100~200μL

#### 悬浮细胞样品：

1. 4°C、500~1000xg、10min, 收集细胞, 弃上清。
2. 用 PBS 洗细胞一次, 即用 PBS 将细胞团重悬, 4°C、500~1000xg、5min, 收集细胞, 弃上清。
3. 用预冷的 IP Lysis/Wash Buffer 重悬细胞。每 50mg 细胞使用 500μL IP Lysis/Wash Buffer。同时加入 PMSF 等相应的抑制剂, 混匀后置于冰上静置 5~20min ( 期间混匀几次 )。
4. 4°C, 12000~16000xg, 10min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 ( 或置于 -80°C 长期保存 )。

#### 血清样品：

一般建议用 IP Lysis/Wash Buffer 稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 50~150μg/mL, 置于冰上备用 ( 或置于 -20°C 长期保存 )。

#### 免疫沉淀：

**注意：为保证磁珠均匀分布, 使用前通过反复颠倒或轻微涡旋混匀瓶中磁珠。**

1. 将 20~50μL 的 Biolinkedin® Anti-Myc 磁珠 ( G2 ) 加入 1.5mL 离心管中。
  2. 向磁珠中加入 500μL 预冷 PBS, 轻柔混匀。
  3. 将离心管放入磁力架中收集磁珠到离心管的一边。去除上清。
  4. 向离心管中加入 200~500μL IP Lysis/Wash Buffer。颠倒离心管数次或轻微涡旋混匀 1min。用磁力架收集磁珠。去除上清。
  5. 将含有 Myc 标签标记的蛋白样品加入装有磁珠的离心管中, 保持混匀室温下孵育 1~2h, 或 4°C 2~4h。
  6. 用磁力架收集磁珠, 除去未结合的样品, 保存以备分析。
  7. 向离心管中加入 1000μL IP Lysis/Wash Buffer, 轻柔混匀磁珠 5~10min。收集磁珠, 弃上清。再重复洗两次。
  8. **变性洗脱：**向离心管中加入 80~100μL SDS-PAGE Sample Loading Buffer ( 1× ), 将样品置于 100°C 水浴或者金属浴中加热 10min。通过磁力架分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。
- 备注：**如需保持蛋白活性, 也可采用以下洗脱方式。
- 低 pH 洗脱：**向离心管中加入 100μL Elution Buffer。保持混匀在室温下孵育离心管 5~10min。通过磁力分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。每 100μL 洗出液中加入 20μL Neutralization Buffer 来中和低 pH。

## 注意事项

1. 进行实验操作之前，请务必认真阅读本操作说明书。
2. 请勿高速离心、干燥或冷冻磁珠，这些操作会导致磁珠聚集而降低结合能力。
3. IP 实验中不同类型的抗体与抗原结合的亲和性是有区别的，抗体与抗原结合还会受到 IP Lysis/Wash Buffer 的影响，因此**可自行优化操作细节或者筛选及配制缓冲液进行实验。**
4. 磁珠使用前应充分振荡均匀。磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
5. 本产品仅供科学研究使用。

## 相关产品

货号	产品名称
L-1010	Anti-Myc 磁珠
<b>L-1102</b>	<b>Anti-Myc 磁珠 ( G2 )</b>
L-1108	Anti-Myc 琼脂糖凝胶 ( G2 )
L-1302	Anti-Myc 琼脂糖磁珠

## 问题解决

### 1. 抗原没有免疫沉淀下来

- ① 样品中所含的抗原过少，不足以被检测  
**建议：**通过 SDS-PAGE 或蛋白免疫印迹验证裂解液中蛋白的表达和/或裂解效率； 如果需要，加大样品量
- ② IP Lysis/Wash Buffer 中的成分干扰了抗原与抗体的结合  
**建议：**使用其它缓冲液进行免疫沉淀和漂洗（例如，含有 0.5% CHAPS 的 TBS）

### 2. 获得的蛋白量低

- ① 蛋白质被降解  
**建议：**加入蛋白酶抑制剂
- ② 所使用的磁珠量不够  
**建议：**提高捕获免疫复合物所使用的磁珠量
- ③ 样品中的目标蛋白量不够  
**建议：**提高抗原样品量

### 3. 多条非特异条带

有非特异性的蛋白结合在磁珠上

**建议：**在 IP Lysis/Wash Buffer 中加入 50~350mM NaCl。加大洗脱力度和次数。

### 4. 磁珠聚集

磁珠在低 pH 的 Elution Buffer 中发生聚集属于正常现象，不影响磁珠的正常使用。

**建议：**用 IP Lysis/Wash Buffer 至中性，然后用含有 0.1% ( v/v ) Tween-20 的 Tris buffer ( pH7.5 ) 振荡重悬磁珠，并用超声波水浴处理，即可使磁珠恢复均匀状态，以上处理均不影响磁珠的抗体结合效率。也可添加终浓度为 0.1% ( v/v ) 的非离子型去垢剂( 如 Tween-20 或 Triton X-100 ) 可有效防止磁珠聚集。

**注意：**超声处理也会使磁珠在样品溶液中捕获的抗体脱落，所以磁珠在加样后洗脱前不宜使用该方法。