

Anti-HA MagBeads

Anti-HA 免疫磁珠

产品简介

Anti-HA 免疫磁珠 (Anti-HA MagBeads) 是一种聚合物磁性微球，由高质量的鼠源抗 HA 单克隆抗体与粒径为 200 nm 的硅基磁珠通过共价偶联制备，本产品具有快速的磁响应性，超顺磁性、良好的分散性、粒径均一、极低的非特异结合和丰富的结合位点等特点，可用于带有 HA 标签的蛋白免疫沉淀 (IP) 或免疫共沉淀 (Co-IP)。

产品信息

货号	20566ES76 / 20566ES03/20566ES08
规格	500 μ L/1 mL/5 mL

产品性质

基质 (Matrix spherical)	硅基磁珠
配体 (Ligand)	Anti-HA Antibody
结合能力 (Binding Capacity)	≥ 0.4 mg HA 标签融合蛋白/mL 磁珠
粒径 (Particle size)	200 nm
磁珠浓度 (Concentration)	10 mg/mL
储存缓冲液 (Storage Buffer)	PBS, 0.01% Tween-20, 0.02% NaN ₃
应用 (Application)	IP、Co-IP 等

储存条件

2~8°C 保存，有效期 1 年。**避免冻存!**

使用说明

以免疫沉淀 (IP) 为例，步骤如下：

1. 缓冲液配制

【注】建议以下缓冲液在使用前用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

裂解缓冲液: 0.15 M NaCl, 50 mM Tris-HCl, 1% NP-40, pH7.4 或 WB/IP 裂解液 (Cat#20118ES)

平衡/结合/洗杂缓冲液: 0.15 M NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, pH7.0

洗脱缓冲液: 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

中和缓冲液: 1 M Tris-HCl, pH 8.5

2. 样品准备

本操作说明书提供以下三种样品处理方法，建议您根据不同来源的样品选择适当的方式进行预处理，使待检测蛋白释放至样品溶液中。

血清样品处理: 若目标蛋白丰度较高，建议用结合缓冲液稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 10-100 μ g/mL，置于冰上备用(或置于-20°C长期保存)。

悬浮细胞样品处理：离心收集细胞（4℃, 1000g, 5 min），用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 μL 裂解液的比例加入含蛋白酶抑制剂的裂解液（裂解液应在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM）。混匀后置于冰上处理 10 min；离心收集上清液（4℃, 14000g, 10 min），置于冰上备用（或置于-20℃长期保存）。

贴壁细胞样品处理：移去培养基，用 PBS 清洗细胞两遍；用细胞刮棒刮脱细胞，收集至 1.5mL EP 管内，按照 6 孔板每孔加入 150-250 μL 裂解液的比例加入含蛋白酶抑制剂的裂解液（裂解液应在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM）。用枪吹打下，使裂解液和细胞充分接触。混匀后置于冰上处理 10 min；离心收集上清液（4℃, 14000g, 10 min），置于冰上备用（或置于-20℃长期保存）。

3. 磁珠预处理

3.1 用移液器轻柔吹打 Anti-HA 免疫磁珠，使其充分混悬，取 25~50 μL 磁珠悬液置于 1.5 mL 离心管中。

3.2 加入 500 μL IP Lysis/Wash Buffer 并轻轻移液器混合，用移液器轻柔吹打重悬 Anti-HA 免疫磁珠，放置在磁分离器上，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清。重复洗 2 次。

4. 样品的结合

4.1 在预处理后的磁珠中加入含有 HA 标签的蛋白样品，置于翻转混合仪上孵育(常温 1~2 h, 或 4℃过夜)；

4.2 将上述混合液置于磁力架上静置，大约 1 min，待溶液变澄清后，把上清液转移到新的离心管中备用(上清液可用于检测 HA 标签蛋白是否存在残留)，原离心管中剩余的即为蛋白-磁珠复合物；

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。

5. 洗涤

5.1 向上述步骤 4.2 所得的蛋白-磁珠复合物中加入 1000 μL IP Lysis/Wash Buffer，轻柔混匀磁珠 5~10 min，接着在磁力架上静置，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清；

5.2 重复步骤 5.1 两次，直至洗涤后的上清液 OD280 小于 0.05 为止；

注意：如上清液的 OD280 仍大于 0.05，则适当增加洗涤次数。

6. 蛋白洗脱

根据下游用途选择洗脱方法。

6.1 HA 融合蛋白洗脱

1) 配制 HA 多肽洗脱液：TBS 中溶解 HA 多肽，终浓度为 0.2-1 mg/mL。

2) 分别加入 100 μL HA 多肽洗脱液，4℃孵育 2 h-6 h（慢慢摇晃）

3) 分离磁珠上的磁珠并保存含有目标抗原的上清液。

4) 重复洗脱步骤一次以获得更高的回收率

6.2 酸性洗脱 (0.1 M Gly-HCl, pH 3.0)

1) 加入 100 μL 0.1 M Gly-HCl, pH 3.0, 室温孵育 5-10 min（慢慢摇晃）。

2) 分离磁珠上的磁珠并保存含有目标抗原的上清液。

3) 中和低 pH，每 100 μL 洗脱液加入 20 μL 中和缓冲液(1 M Tris-HCl, pH 8.5)。

6.3 用 SDS-PAGE 上样缓冲液洗脱

如需直接检测目的蛋白，则在上述洗涤过的蛋白-磁珠复合物中加入 80~100 μL 1×SDS-PAGE 上样缓冲液，煮沸 10 min，冷却至室温并在磁力架上分离磁珠，取上清进行 SDS-PAGE 检测。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途。

2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。