



HA 标签抗体磁珠  
产品说明书

产品说明

|      |           |      |                |
|------|-----------|------|----------------|
| 货号   | PLM004    | 产品形态 | 液体             |
| 磁珠浓度 | 10 mg/mL  | 有效期  | 12 个月          |
| 磁珠粒径 | 1 $\mu$ m | 应用   | IP、Co-IP 和蛋白纯化 |
| 储存条件 | 2-8℃ 保存   |      |                |

产品规格

| 编号 | 组分名称      | 规格      |         |         |
|----|-----------|---------|---------|---------|
|    |           | PLM004S | PLM004M | PLM004L |
| 1  | HA 标签抗体磁珠 | 1 mL    | 2 mL    | 5 mL    |

操作说明

本说明书提及的使用方法以使用 20 $\mu$ L 的磁珠进行免疫沉淀实验为例，操作者可根据实际需要调整磁珠用量（20-50 $\mu$ L，不建议使用超过 50 $\mu$ L 磁珠，过量的磁珠将增加非特异性结合的可能性），并参照此说明书体系调整对应试剂的用量，使用前请将 5 $\times$ 洗涤缓冲液用纯水稀释至 1 $\times$ 使用。

1.HA 标签蛋白样品准备

注意：为了获取更好的结果，请确保细胞裂解物或其它样品中含有足够的 HA 标签融合蛋白。

- 1.1 将细胞裂解物离心，14000 rpm、4℃、10 min；
- 1.2 取上清用 BCA 法测蛋白浓度，并取 10%的上清作为 Input，加入 5 $\times$  Loading buffer，95℃加热 12 min。

2. HA 标签蛋白纯化

- 2.1 磁珠预处理：将磁珠涡旋震荡 10s，使用移液枪吹打混匀，使其充分混悬且分散；取 20 $\mu$ L 磁珠悬液置于 1.5mL Ep 管中。加入 200 $\mu$ L 的细胞裂解液，充分混匀，置于磁力架静置 1min，吸弃上清，重复洗涤 2 次。
- 2.2 磁珠与 HA 标签蛋白反应：加入 200 $\mu$ L 细胞裂解液（裂解液需提前加入蛋白酶抑制剂）重悬磁珠；加入 300~500  $\mu$ g HA 标签蛋白；4℃翻转孵育过夜。
- 选做：孵育过夜结束后，取 40 $\mu$ L 上清，加入 10 $\mu$ L 5 $\times$  Loading buffer，混匀后 95℃加热 12min，标记为 SUP（上清）。此步骤可评估磁珠效价。
- 2.3 磁珠洗涤：加入 500 $\mu$ L 1 $\times$ 洗涤缓冲液洗涤磁珠 2 遍。
- 2.4 转移：加入 500 $\mu$ L 1 $\times$ 洗涤缓冲液，将磁珠转移到新的 1.5mL Ep 管，磁性分离，去上清。
- 3.HA 标签蛋白洗脱(提供三种 HA 标签洗脱方案，操作者可以根据后期检测的需要选择不同的洗脱方法)
- 3.1. 变性洗脱法：此方法洗脱的样品适用于 PAGE 检测。步骤如下：
- 3.1.1 加入 30 $\mu$ L 1 $\times$  Loading buffer（5 $\times$  Loading Buffer 稀释成 1 $\times$ ）重悬磁珠，稍微涡旋以混匀，随后稍稍微量离心让样品沉淀。
- 3.1.2 将样品加热到 95℃，12 分钟。
- 3.1.3 使用磁性分离架将磁珠沉淀小球。将上清液转移到新试管。上清液为样品。
- 注意：当使用的一抗检测分子量在 50 或 25kDa 范围内的蛋白质时，建议使用构象特异性二抗进行检测，以尽量减少变性重链或轻链对检测结果产生的干扰。
- 3.2 酸洗法：此方法洗脱的样品保持原有的生物活性，可用于后期功能分析。步骤如下：
- 3.2.1 向磁珠中加入 50 $\mu$ L 洗脱缓冲液，室温孵育 10 min。
- 3.2.2 孵育完成之后，置于磁力架上分离磁珠，收集上清至新的 Ep 管，并立即滴入 5 $\mu$ L 的中和缓冲液，使洗脱产物 pH 调节至中性，样品用于后期功能分析。
- 3.3 HA 多肽竞争洗脱法：此方法为非变性洗脱法，洗脱后的样品保持原有的生物活性，可用于后期功能分析。步骤如下：
- 3.3.1 配置 HA 多肽洗脱液：取适量 HA 多肽溶解于 1 $\times$  TBS 中，使其终浓度为 200  $\mu$ g/mL。



3.3.2 向磁珠中加入 100  $\mu$ L 洗脱液，混匀后置于侧摆摇床或旋转混合仪上，室温摇晃孵育 30-60 分钟，或 4 $^{\circ}$ C 孵育 4-6 小时。

3.3.3 孵育完成之后，置于磁力架上分离磁珠，将上清转移到新的离心管，上清即为洗脱的 HA 标签蛋白。

### 注意事项

1. HA 抗体磁珠液 pH 值为 7-8，禁止冻结。
2. 磁珠应避免高速离心、干燥或冻存（可以瞬时离心），禁止长时间置于磁场，可能会引起磁珠聚团，抗体结合后操作过程应轻柔，避免抗体脱落；超声处理会使磁珠在样品中捕获的抗体脱落，所以磁珠在捕获抗体后不宜使用该方法重悬磁珠。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。