

## Anti-V5 (GKIPNPLLGLDST) 免疫磁珠

Catalog Number: EA-IP-010M

**Note:** 请勿离心，轻柔混匀后使用。

### 性能指标

|      |                                                                                                                  |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      | 应用于带有 V5 标签的融合蛋白或其蛋白复合物的免疫（共）沉淀。                                                                                 |
| 应用范围 | V5 标签可以位于蛋白的 N 端，C 端或中间，如 N 端 His 融合蛋白（V5-Protein）、C 端 V5 融合蛋白（Protein-V5）和 Met 修饰的 N 端 V5 融合蛋白（Met-V5-Protein）。 |
| 抗体属性 | V5-Tag Rabbit pAb: 兔 IgG。                                                                                        |
| 凝胶属性 | 磁珠，平均粒径 3 $\mu\text{m}$ 。                                                                                        |
| 凝胶载量 | 1mL 磁珠悬液，含 20mg 磁珠，共价偶联约 1 mg Anti-V5 兔 IgG 抗体。                                                                  |
| 主要成分 | 1mL Anti-V5 免疫磁珠，可沉淀 1~2 mg V5 融合蛋白。<br>0.25mL Anti-V5 免疫磁珠，保存于 0.75mL 含防腐剂的 PBS 中。                              |

## 注意事项

1. 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。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品以悬液形式提供亲和磁珠，使用前先温和重悬磁珠悬液，然后按照需求取用。
4. 勿离心、冷冻、干燥磁珠，勿使用超声处理磁珠，勿使酸处理磁珠时间超过 10min。
5. 混匀磁珠时，请采用移液枪轻柔吹打，柔和涡旋，上下颠倒及摇床混匀等方法。勿使用超声等方法。
6. 配套使用的相关试剂，需实验室自备。

## 使用方法

### 1. 目标蛋白样品制备

#### 1) 血清及分泌表达目标蛋白样品处理

收集血清或培养基上清，检测目标蛋白浓度。如果目标蛋白质浓度较高，建议用 1×PBS 稀释至蛋白质终浓度为 10~100μg/mL，以备后续实验。

#### 2) 细胞内表达目标蛋白样品处理

- a. 将悬浮细胞或贴壁细胞从细胞培养瓶上吹下来后转入离心管中，1000rpm 离心5min，弃上清。
- b. 用预冷至 4°C 的 1×PBS 重悬细胞，1000rpm 离心3min，弃上清。重复 1 次。
- c. 根据细胞的量加入相应体积的细胞裂解液，反复吹打后冰上放置 10~20min。

**注：一般 1mL 细胞裂解液可以处理约  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细胞。为了避免目标蛋白质降解，您可以添加蛋白酶抑制剂（PMSF 工作浓度：0.1~1.0mmol/L）。**

- d. 用超声破碎仪处理细胞裂解液，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。冰上放置30min 之后，12000rpm，4°C离心 10min。取上清，可立即进行下一步实验或置于-80°C冻存。

**注：若无超声破碎仪，也可使用削成斜口的枪头或注射器反复吹吸，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。**

### 2. 装柱及孵育

#### 1) Anti-V5 免疫磁珠准备

- a. 温和重悬Anti-V5 免疫磁珠，混合均匀，取40μL 磁珠悬液（约含 10μL 磁珠）至离心管中。
- b. 加入500μL 的 1×PBS 轻柔重悬清洗磁珠，磁力架上静置 10 sec 后，弃上清，重复上述步骤2 次。

**注：多个样品时，可将磁珠重悬后分装到数个反应管中分别进行反应。**

#### 2) 目的蛋白与 Anti-V5 免疫磁珠的结合

- a. 孵育：清洗后的磁珠中加入 500μL 准备好的样本，摇床上室温孵育2h，也可4°C孵育过夜或更长时间。
- b. 清洗：孵育完毕后，磁性分离，弃上清。加入500μL 1×PBST，温和混匀，清洗磁珠，磁性分离，弃上清。重复3 次。
- c. 加入20μL 1×PBS 和5μL 5×上样缓冲液，煮样5min，冷却至室温并离心。
- d. 取上清进行 SDS-PAGE 实验，以备后续的Western Blotting 检测。

**For Research Use Only**

## 背景信息

Anti-V5 免疫磁珠由高品质的V5 抗体与磁珠共价偶联而成,可特异性地与样品中含有V5 标签的蛋白结合,从而用于带有V5 标签的融合蛋白或其蛋白复合物的免疫沉淀、或免疫共沉淀。

## 储存方法

4°C可保存 12 个月。