

**Note:** 请勿离心，轻柔混匀后使用。

## 性能指标

<b>应用范围</b>	V5 标签融合蛋白的亲纯化及免疫（共）沉淀等。 V5 标签可以位于蛋白的 N 端，C 端或中间，如 N 端 V5 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）。 仅适用于分泌蛋白的亲纯化。
<b>抗体属性</b>	兔多克隆抗体：IgG 2a 亚型。
<b>凝胶属性</b>	琼脂糖凝胶颗粒，平均粒径 100~200 μm。
<b>凝胶载量</b>	1mL Sepharose 4B 琼脂糖颗粒，共价偶联 6mg 兔来源的 IgG。 1mL 亲和凝胶可纯化或沉淀至少 1.2mg His 融合蛋白。
<b>主要成分</b>	1mL Anti-V5 亲和凝胶，保存于 1mL 含防腐剂和 50%甘油的 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. 本产品为凝胶悬液形式，亲和凝胶的含量为 50%，使用前先温和重悬凝胶悬液，然后按照需求取用。
4. IP-WB 样品现配现用，避免影响实验结果。
5. 勿干燥凝胶，勿使用超声处理凝胶，勿使酸处理凝胶时间超过 10min。

## 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 0.5~1×10<sup>7</sup> 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. 对照组设置（仅供参考，实验过程中请按实际需要调整）

#### 1) 阴性对照

- a. 抗体的阴性对照：以凝胶偶联 Mouse IgG 亚型标签抗体为例，选择 Mouse IgG 亲和凝胶（货号：IP100）做为抗体的阴性对照，使用方法与凝胶偶联抗体相同。

## For Research Use Only

# Anti-V5 (GKPIP NPLLGLDST) 亲和凝胶



Catalog Number: EA-IP-010

b. 蛋白的阴性对照：使用不表达靶蛋白 X 但表达无关蛋白 Y 的蛋白样品做对照，处理方法与待对照靶蛋白相同。

## 2) 阳性对照

a. 以稀释至 10~100 $\mu$ g/mL 未添加磁珠凝胶偶联抗体处理的蛋白样品作为阳性对照，即 Input 组。上样缓冲液制备方法与实验组相同。

## 3. 免疫（共）沉淀法检测 V5 标签蛋白质

- 温和重悬 Anti-V5 亲和凝胶，混合均匀，用剪去末端的枪头吸取 40 $\mu$ L 凝胶悬液（约含 20 $\mu$ L 亲和凝胶）至离心管中。加入 5 倍凝胶体积（约 100 $\mu$ L）的 1 $\times$ PBS 清洗亲和凝胶，5000rpm 离心 30sec，弃上清，重复此步骤 3 次。
- 加入 50-200 $\mu$ L 含有目标蛋白的样本溶液，室温摇床孵育 2h 或者 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。
- 加入 10 倍凝胶体积（约 200 $\mu$ L）的 1 $\times$ PBS 清洗亲和凝胶，5000rpm 离心 30sec，弃上清，重复此步骤 3 次。
- 加入预冷至 4 $^{\circ}$ C 的 5 倍凝胶体积（约 100 $\mu$ L）的 PBST 预洗液洗涤亲和凝胶，除去非特异性结合蛋白。5000rpm 离心 30sec，弃上清。
- 加入 20 $\mu$ L 1 $\times$ PBS 和 5 $\mu$ L 5 $\times$ 上样缓冲液，煮沸 5min，冷却至室温并离心。
- 取上清进行 SDS-PAGE 实验，以备后续的 Western Blotting 检测。

### 背景信息

Anti-V5 (GKPIP NPLLGLDST) 亲和凝胶，由高品质的 V5 标签抗体与琼脂糖凝胶共价偶联制成，具有高载量，高特异性，性质稳定，可反复使用的特点，可用于亲和纯化、免疫沉淀(IP)、免疫共沉淀(Co-IP)等免疫沉淀相关实验。

### 储存方法

-20 $^{\circ}$ C 可保存 12 个月。

## For Research Use Only

A Reliable Research Partner in Life Science and Medicine

Tel: 400-999-2100

Email: techsupport@elabscience.cn

Web: www.elabscience.cn