

# Системы выделения KingFisher

Автоматизированное и масштабируемое  
выделение белков и нуклеиновых кислот

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC



**000 «Диаэм»**

**www.dia-m.ru**

**Москва**  
ул. Магаданская,  
д. 7, к. 3  
тел./факс:  
(495) 745-0508  
sales@dia-m.ru

**Новосибирск**  
пр. Акад.  
Лаврентьева, д. 6/1  
тел./факс:  
(383) 328-0048  
nsk@dia-m.ru

**Казань**  
ул. Парижской  
Коммуны, д. 6  
тел./факс:  
(843) 210-2080  
kazan@dia-m.ru

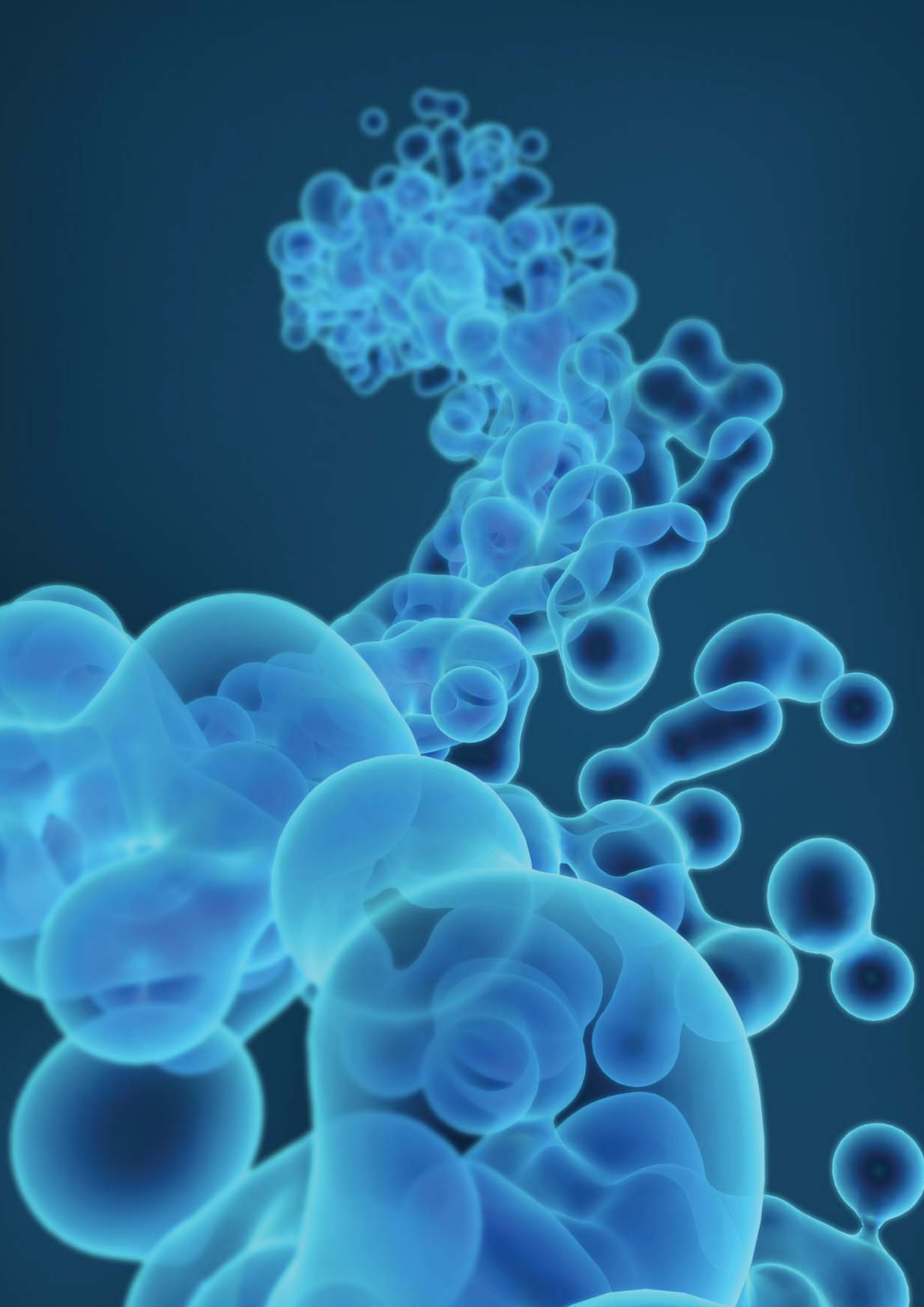
**С.-Петербург**  
ул. Профессора  
Попова, д. 23  
тел./факс:  
(812) 372-6040  
spb@dia-m.ru

**Ростов-  
на-Дону**  
пер. Семашко, д. 114  
тел./факс:  
(863) 250-0006  
rnd@dia-m.ru

**Пермь**  
Представитель  
в УФО  
тел./факс:  
(342) 202-2239  
perm@dia-m.ru

**Воронеж**  
Представитель  
тел./факс:  
(473) 232-4412  
voronezh@dia-m.ru

**Армения**  
Представитель  
тел.  
094-01-01-73  
armenia@dia-m.ru



# Содержание



Введение в технологию KingFisher	4
Приложения и программы	5
Системы KingFisher Flex и KingFisher Duo Prime	6–7
Выделение нуклеиновых кислот	8–11
Иммунопреципитация и выделение белков	12–15
Информация для заказа	16



# Введение в технологию KingFisher

## Система полной очистки нуклеиновых кислот, белков и клеток

От качественной и воспроизводимой очистки нуклеиновых кислот, белков и клеток зависит успех последующего анализа. Системы выделения Thermo Scientific™ KingFisher™ обеспечивают качественные результаты с минимальной затратой времени на ручную подготовку, помогая автоматизировать значительную часть рабочего процесса.

- Выбирайте одну из пяти различных систем в соответствии с вашими задачами и количеством образцов.
- Оптимизированные наборы облегчают процесс выделения из широкого спектра образцов
- Программа Thermo Scientific™ BindIt™ позволяет создавать индивидуальные протоколы, обеспечивая дополнительную гибкость в решении ваших задач.
- Специализированные расходные материалы позволяют эффективно обрабатывать образцы.

## Технология магнитной сепарации

В системах KingFisher магнитные стержни с одноразовыми наконечниками осуществляют сбор, перенос и смешивание магнитных частиц (рис 1):

1. Когда магнитный стержень, расположенный внутри наконечника, опускают в раствор, магнитные шарики собираются на конце наконечника.
2. Когда наконечник помещают в различные лунки или плашки, частицы освобождаются в результате перемещения магнитных стержней из наконечника.
3. Наконечник облегчает смешивание реактивов с частицами, поскольку магнитная головка движется вверх и вниз.

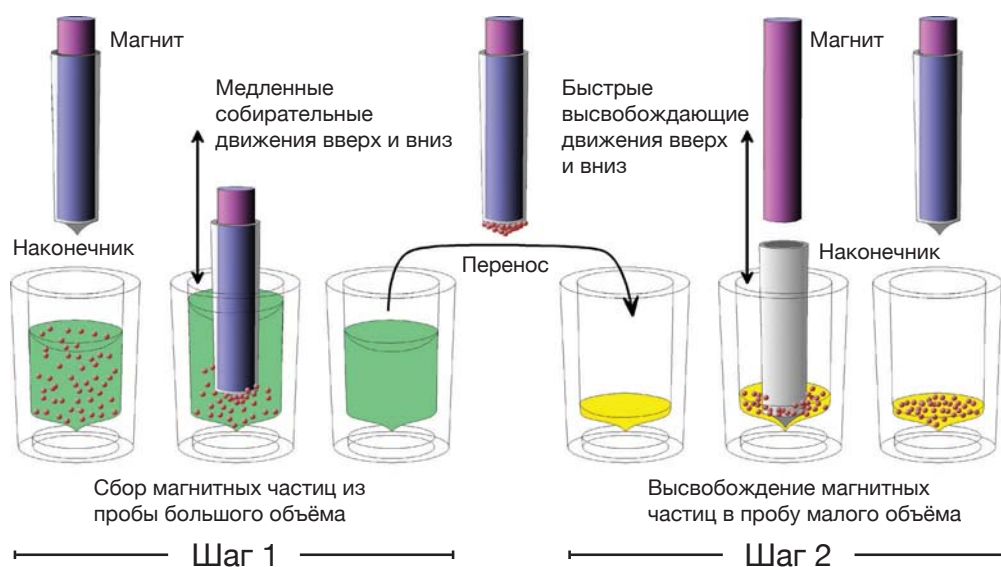


Рисунок 1. Технология магнитной сепарации King Fisher

## Расходные материалы для систем KingFisher

Расходные материалы для систем King Fisher изготовлены из пропилена, не взаимодействуют с биомолекулами и идеально подходят для работы с магнитными частицами. При использовании специальных плашек и наконечников, специально разработанных для систем King Fisher, значительно повышается качество выделения белков и нуклеиновых кислот и выход целевого продукта.



## Приложения и программы

### Выделение нуклеиновых кислот

Использование наборов Applied Biosystems™ Mag Max™ в системах KingFisher™ Flex или KingFisher™ Duo Prime делает процесс выделения быстрым и простым, в результате чего вы получаете чистую нуклеиновую кислоту, готовую для последующих исследований, таких как ПЦР в реальном времени и секвенирование нового поколения.

Основные преимущества использования наборов MagMax и системы KingFisher Flex на 24 глубоких лунки:

- Экстракция нуклеиновых кислот из больших объемов образцов
- Стабильное выделение нуклеиновых кислот высокого качества из широкого спектра образцов
- Контроль перекрестной контаминации благодаря технологии переноса частиц



### Иммунопреципитация и очистка белков

Продукция Invitrogen™ Dynabeads™ является пионером в биомагнитных технологиях и помогает достичь наилучшего баланса между высоким выходом продукта и воспроизводимостью результатов, при низком неспецифическом связывании и затратах. Такой баланс является одной из причин, почему продукция Dynabeads стала золотым стандартом для иммунопреципитации (ИП) на магнитных частицах и хорошо подходит для автоматизации процесса.

Основные преимущества использования продукции Dynabeads с системой KingFisher:

- **Низкое неспецифическое связывание**, не требуется предварительная очистка, высокое соотношение сигнал/шум.
- **Высокая воспроизводимость** – стабильные результаты благодаря одинаковой форме частиц
- **Гибкость** - реактивы для ИП, ко-ИП, хроматиновой иммунопреципитации (Хр ИП) идеально подходят для ручного и автоматизированного протоколов.
- **Экономия антител** - всё связывание проходит на гладкой поверхности магнитных частиц, это экономит драгоценные антитела и обеспечивает экономическую эффективность.
- **Высокая чувствительность: технология Dynabeads** – это самый часто цитируемый метод для таких чувствительных исследований, как хроматиновая иммунопреципитация и иммунопреципитация редких белков.

### Программное обеспечение и протоколы BindIt

С помощью программного обеспечения (ПО) BindIt для систем KingFisher вы можете создавать и хранить протоколы в базе данных компьютера (ПК). Как только протокол создан, вы можете перенести его в память системы KingFisher или сразу же запустить его выполнение. В зависимости от этапа протокола параметры текущего шага отображаются на экране. Параметры всех этапов выполняются по умолчанию, но могут быть изменены для конкретного приложения. Также, вы можете загрузить и использовать протоколы из нашей обширной библиотеки.

- ПО совместимо с открытой платформой систем King Fisher
- Для уникальных исследований возможно изменение существующих или создание новых протоколов.

- Позволяет прописать специфические плашки и реактивы при дизайне эксперимента.
- Создает отчеты, включающие журнал запуска, расположение плашек и пошаговые параметры.
- Позволяет системе KingFisher Flex взаимодействовать с системами дозирования жидкостей, роботизированными системами и оборудованием для автоматической подачи плашек, т.о. полностью поддерживая автоматический режим и высокую пропускную способность.
- Обновленные протоколы предоставляются бесплатно, по мере доступности.

# Система KingFisher Flex

Система Thermo™ KingFisher™ Flex позволяет обрабатывать от 24 до 96 образцов за запуск в гибком формате, сохраняя воспроизводимость результатов выделения. Она может работать с различными наборами для выделения, в том числе с реагентами Dynabeads или наборами для экстракции нуклеиновых кислот MagMax, позволяя ученым получать образцы для различных научных задач.

## Ключевые особенности системы KingFisher Flex

- Простая подготовка для быстрого начала работы
- Удобный графический интерфейс
- ПО BindIt позволяет контролировать прибор, а также создавать, изменять и загружать протоколы
- Высокая скорость выделения нуклеиновых кислот, белков и клеток
- Высокая процессивность системы позволяет обрабатывать до 96 образцов за один цикл и существенно сокращает время ручной работы
- Расширенный рабочий объем образцов с новым 24-х луночным форматом

## Оптимизированные пластиковые расходные материалы

### Плашка с 24 глубокими лунками

- Общий объем 200–5,000 мкл

### Плашка с 96 глубокими лунками

- Общий объем 50-1 000 мкл

### 96-луночные микроплашки

- Общий объем 50-200 мкл (с магнитной головкой для глубоких лунок)



## Технические характеристики

Применение	Выделение ДНК и РНК из различных исходных материалов, протеомные исследования, выделение клеток.
Количество образцов за запуск	96 или 24 образца
Типы пластиковых расходных материалов	Плашка с 96 глубокими лунками Плашка с 24 глубокими лунками 96-луночные микроплашки
Рабочий объем	50-1 000 мкл, плашка с 96 глубокими лунками 200-5 000 мкл, плашка с 24 глубокими лунками 20-200 мкл, 96-луночная плашка
Температура нагрева	От 5°C выше температуры окружающей среды до +115°C
Внутренняя память	Вмещает около 500 протоколов
Импорт протоколов	С помощью ПО BindIt
Взаимодействие с компьютером	RS-232, USB
Габариты (Ш*Д*В)	680 x 600 x 380 мм
Вес	28 кг

\* Compatible with Windows™ 7 and 8 operating systems.

# Система KingFisher Duo Prime

Система Thermo Scientific™ KingFisher™ Duo Prime предлагает экономичный вариант автоматического выделения нуклеиновых кислот и белков на магнитных частицах, обрабатывая до 12 образцов за один цикл выделения и до 24 образцов за запуск прибора. Использование системы KingFisher Duo Prime вместе с наборами для экстракции нуклеиновых кислот Dynabeads или MagMax позволяет обрабатывать широкий спектр образцов разного объема.

## Ключевые особенности системы KingFisher Duo Prime

- Простая установка
- Удобный графический интерфейс
- Предустановленные протоколы для наборов экстракции нуклеиновых кислот MagMax
- Автоматическое выделение нуклеиновых кислот, белков и клеток из широкого спектра образцов
- Рабочий объём до 5 мл в 6-ти луночном формате
- Простое в использовании ПО BindIt позволяет контролировать инструмент, создавать и изменять протоколы
- Встроенная УФ-лампа легко и надёжно производит дезинфекцию
- Сканер штрих-кодов (доп. опция) позволяет отслеживать образцы непосредственно в ПО
- Компактная система, легко помещается на небольшом рабочем столе

## Оптимизированные пластиковые расходные материалы

### Плашка с 24 глубокими лунками

- Совместима с 6-канальной магнитной головкой
- Общий объём 200-5 000 мкл

### Плашка с 96 глубокими лунками

- Совместима с 12-канальной магнитной головкой
- Общий объём 50-1 000 мкл
- 12-ти луночный стрип для элюции
- Общий объём 30-130 мкл

### 96 луночные микроплашки

- Совместима с 96-канальной магнитной головкой
- Общий объём 50-200 мкл (с магнитной головкой для глубоких лунок)



## Технические характеристики

Применение	Выделение ДНК и РНК из различных исходных материалов, протеомные исследования, выделение клеток.
Количество образцов за цикл	До 12 (12-канальная магнитная головка) До 6 (6-канальная магнитная головка)
Максимальная загрузка образцов	24
Типы пластиковых расходных материалов	96 с глубокими лунками 24 с глубокими лунками 1x12 стрипы для элюирования
Рабочий объём	30-1,000 мкл (12-канальная магнитная головка) 200-5,000 мкл (6-канальная магнитная головка)
Температура нагревания/охлаждения	от 10 °C до 75°C, прибор при комнатной температуре (ряд А в плашке) от 4° до 75°C, прибор при комнатной температуре (блок стрипа для элюции)
УФ лампа	8 Вт
Время воздействия УФ	до 16 часов
Внутренняя память	Около 200 протоколов
Импорт протоколов	С использованием программы Bindt
Взаимодействие с компьютером	USB
Габариты (Ш*Д*В)	400 x 460 x 340 мм
Вес	17 кг

\* Compatible with Windows™ 7 or 8 operating systems.

# Выделение нуклеиновых кислот

Реактивы Applied Biosystems™ MagMAX™ оптимизированы для работы с технологией KingFisher. Технология магнитных частиц MagMAX™ обеспечивает масштабируемое воспроизводимое выделение

нуклеиновых кислот высокого качества для широкого спектра задач. Доступны наборы для выделения общей РНК, микро РНК (миРНК), мРНК, геномной ДНК и внеклеточной ДНК.

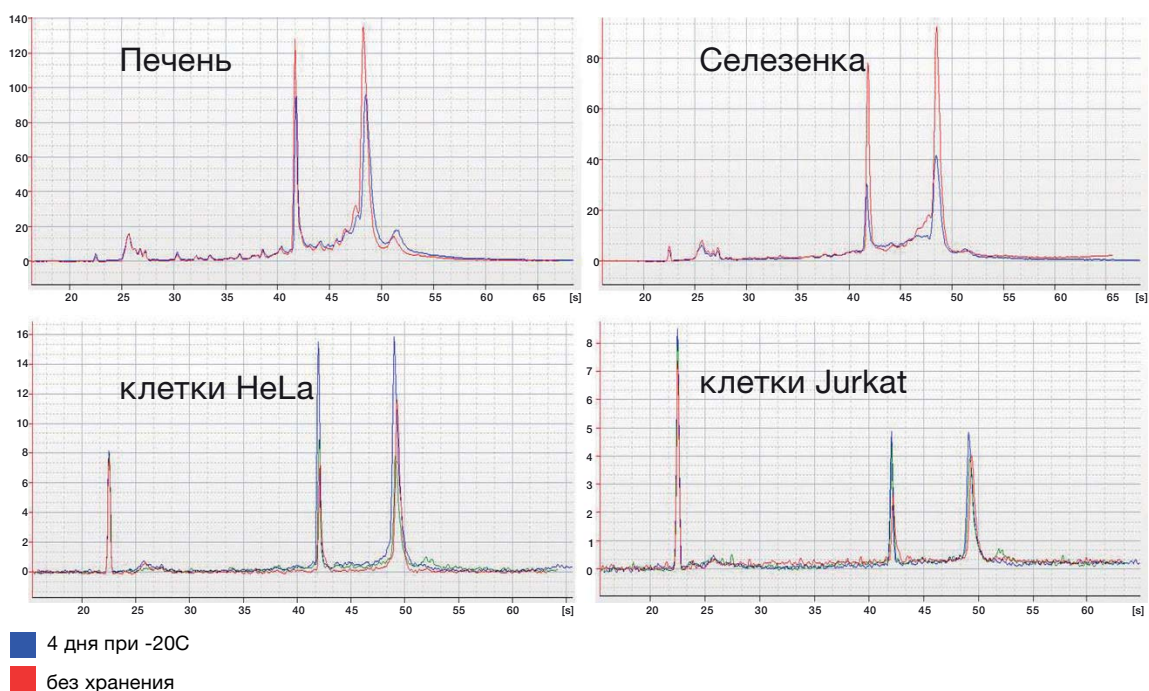
## Общая РНК

С помощью набора Applied Biosystems™ MagMAX™ mirVana™ Total RNA Isolation Kit можно выделять общую РНК, включающую молекулы малых РНК, таких как микроРНК (миРНК) из широкого спектра образцов (рис. 2). Технология магнитных частиц MagMAX обеспечивает воспроизводимое выделение высококачественной РНК для различных задач, включая ОТ-кПЦР с наборами для анализа миРНК Applied Biosystems™ TaqMan® miRNA Assays.

С помощью магнитных частиц возможно легко обрабатывать одновременно 6-96 образцов при использовании совместно с системами KingFisher Flex или King Fisher Duo Prime. В качестве альтернативного варианта, образцы можно обрабатывать вручную используя магнитный штатив.

### Ключевые особенности набора MagMAX mirVana Total RNA Isolation Kit

- Универсальность для большинства задач, связанных с выделением РНК и последующим анализом
- Бесфенольная экстракция с возможностью автоматизации
- Упрощенные протоколы для многочисленных биологических образцов, полученных неинвазивным методом, а также тканей и культур клеток
- Выделение чистой микро-РНК, совместимой с методами miRNA-Seq и RT-qPCR, использующими наборы Applied Biosystems™ TaqMan® Advanced miRNA Synthesis Kit и TaqMan® Advanced miRNA Assay.



**Рисунок 2. Анализ качества РНК.** Общая РНК, включая молекулы малой РНК, была выделена с помощью набора MagMAX mirVana Total RNA Isolation Kit из свежих лизатов образцов или после хранения при – 20°C в течение 4х дней. Затем, равные объёмы полученной РНК были проанализированы с помощью прибора Agilent™ 2100 Bioanalyzer™. Полученные электрофореграммы оказались почти эквивалентными, демонстрируя минимальную потерю целостности РНК при хранении.

Узнайте больше на [thermofisher.com/magmaxmirvana](http://thermofisher.com/magmaxmirvana)



## Геномная ДНК

С появлением новых аналитических методов и технологий, таких как высокопроизводительное секвенирование и секвенирование нового поколения, требования к количеству и чистоте ДНК становятся более жесткими. Набор Applied Biosystems™ MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra Kit отвечает современным требованиям, гарантируя ДНК высокой степени очистки, свободную от нуклеаз, белков и других ингибиторов ферментативных реакций.

Набор MagMAX DNA Multi-Sample Ultra Kit оптимизирован для выделения геномной ДНК (гДНК) из различных образцов, таких как цельная кровь, букальный эпителий, слюна, моча, карты для сбора крови, ткани и смывы ротовой полости. Очищенная с помощью этого набора геномная ДНК идеально подходит для ПЦР на чувствительных масштабируемых платформах, например, ПЦР системе Applied Biosystems™ Quant Studio™ 12K Flex с блоком OpenArray™ и системой AccuFill™. Очистка с помощью магнитных частиц позволяет легко обработать от 12 до 500 образцов в день, что является идеальным для фармакогенетических исследований.

### Ключевые особенности набора MAGMAX DNA Multi-Sample Ultra Kit

- Упрощенные протоколы для многочисленных биологических образцов, полученных неинвазивным методом
- Оптимизирован для выделения ДНК, подходящей для приложений OpenArray™ и Ion AmpliSeq™
- Вариант упаковки для высокой пропускной способности

Узнайте больше на [thermofisher.com/magmaxmulti](http://thermofisher.com/magmaxmulti)



## ДНК/РНК из парафинизированных образцов

Набор Applied Biosystems™ MagMAX™ FFPE DNA/RNA Ultra Kit предназначен для последовательного выделения ДНК и РНК из одних и тех же образцов тканей фиксированных формальдегидом и параформальдегидом в парафине (FFPE/PEPE). Молекулы РНК и ДНК элюируются в отдельные пробирки и, в дальнейшем, могут быть использованы в различных приложениях, включая ПЦР в режиме реального времени и секвенирование следующего поколения. Выделение ДНК и РНК из одних и тех же образцов FFPE делает этот набор идеальным методом подготовки образцов для исследований с помощью наборов Ion Torrent™ Oncomine™ Comprehensive и Oncomine™ Focus.

### Ключевые особенности набора MAGMAX FREE DNA/RNA Ultra Kit

- Гибкий протокол, позволяющий выделять ДНК и РНК как в ручном, так и автоматическом режиме
- Минимальное требование к образцу: секции толщиной от 5 мкм или микротомные срезы
- Способность обрабатывать секции толщиной до 40 мкм FFPE или микротомные срезы, секции более 40 мкм могут быть обработаны с помощью альтернативного протокола.
- Совместимость с панелями для таргетного секвенирования ДНК и РНК
- Содержит магнитные частицы Invitrogen™ Dynabeads™ MyOne™ Silane для воспроизводимого выделения РНК, микроРНК и ДНК.
- Альтернативные протоколы для выделения только РНК или ДНК

Узнайте больше на [thermofisher.com/ffpeisolation](http://thermofisher.com/ffpeisolation)



## Внеклеточная ДНК

Циркулирующая внеклеточная ДНК (цвДНК) - это ДНК, которая содержится в крови. цвДНК может быть выделена из крови или сыворотки для диагностики различных заболеваний и использована в дальнейших исследованиях, таких как ПЦР в реальном времени, цифровая ПЦР или секвенирование следующего поколения. Набор Applied Biosystems™ MagMAX™ Cell-Free DNA Isolation Kit предназначен для выделения и обогащения небольших (<300 п.о.) молекул цвДНК из биологических образцов. Технология магнитных частиц MagMax обеспечивает воспроизводимое выделение высококачественной ДНК и позволяет легко обрабатывать образцы объемом от 500 мкл до 10 мл.

При использовании совместно с системой KingFisher Flex или KingFisher Duo Prime можно одновременно обрабатывать от 6 до 24 образцов плазмы или сыворотки

объемом 2 мл (Рисунок 3). В качестве альтернативного варианта, образцы можно обрабатывать вручную используя магнитный штатив.

### Ключевые особенности набора MagMax Cell Free DNA Isolation Kit

- Бесфенольная экстракция с возможностью автоматизации
- Быстрый протокол позволяет обработать от 6 до 24 образцов за 40 минут или быстрее, при использовании совместно с системой KingFisher Flex или KingFisher Duo Prime с 24-канальной магнитной головкой для глубоких лунок
- Гибкий протокол позволяет работать с образцами плазмы, сыворотки или мочи объемом от 500 мкл до 10 мл.
- Элюирование в объеме от 15 мкл до 50 мкл.

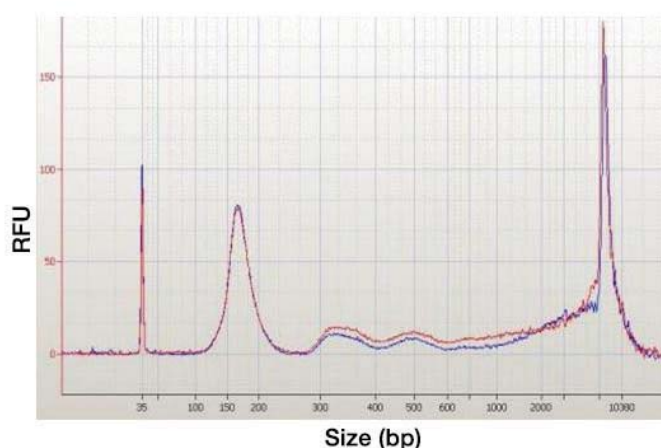
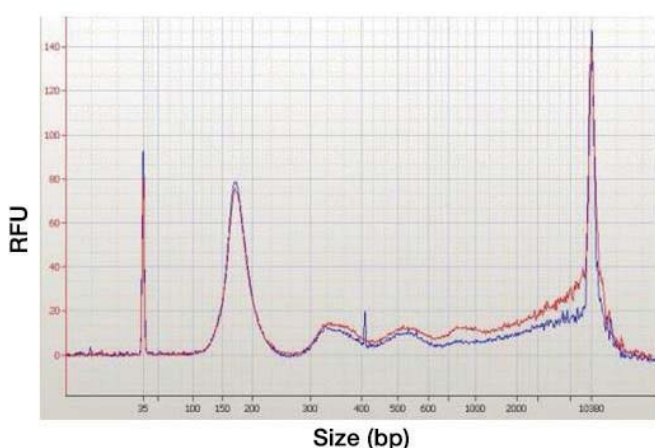
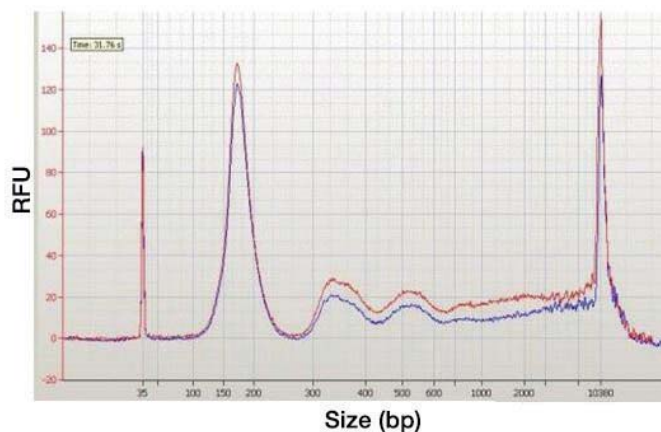
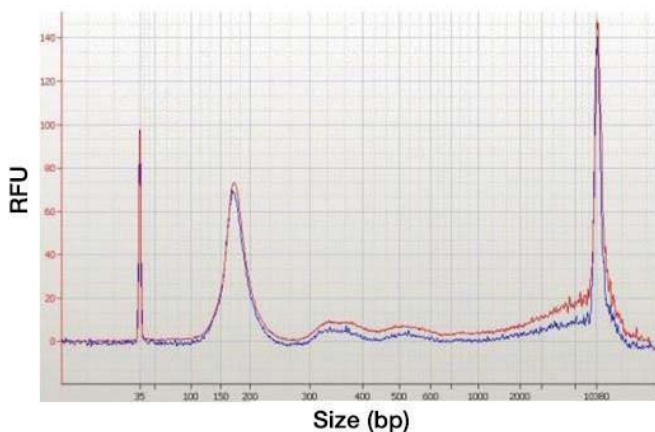


Рисунок 3. Автоматизированное выделение вкДНК с помощью систем King Fisher. Показаны перекрывающиеся пики цвДНК, выделенной с помощью систем King Fisher Flex (красная линия) и KingFisher Duo Prime (синяя линия).

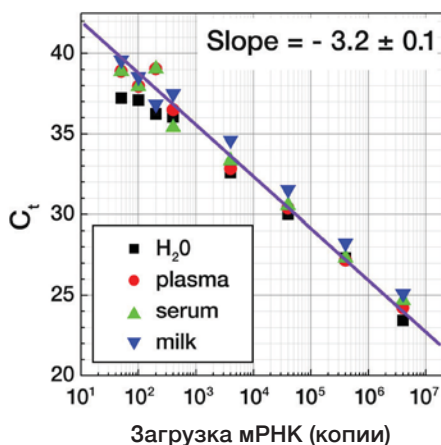
Узнайте больше на [thermofisher.com/cfdnaisolation](http://thermofisher.com/cfdnaisolation)

## Патогенная РНК и ДНК

Для эффективного анализа вирусов в биологических образцах и пробах окружающей среды необходимо применять передовые технологии. Молекулярные методы являются неотъемлемой частью инструментария для быстрого обнаружения и идентификации опасных вирусов. Набор Applied Biosystems™ MagMAX™ Pathogen RNA/DNA Kit позволяет выделять ДНК и РНК из вирусов, лизатов бактерий и паразитов с помощью магнитных частиц в формате 96-луночного планшета. В процессе выделения эффективно удаляются ингибиторы ПЦР, уменьшая количество ложно-отрицательных результатов и обеспечивая идеально чистые нуклеиновые кислоты для использования в ПЦР и ОТ-кПЦР.

### Ключевые особенности набора MagMAX Pathogen RNA/DNA Kit

- **Удобство и гибкость** - один набор для выделения ДНК и РНК из широкого спектра образцов с разным объёмом
- **Уверенность в ваших результатах** – количество ложно-отрицательных результатов сведено к минимуму, благодаря эффективному удалению ингибиторов ПЦР
- **Повышение эффективности рабочего процесса** – процесс обработки 96 образцов занимает около 45 минут при совместном использовании с системой KingFisher Flex с 96-канальной магнитной головкой для глубоких лунок
- **Высокий выход и чистота** – магнитные частицы более эффективно связывают нуклеиновые кислоты, чем фильтры из стекловолокна, а также более эффективно промываются, приводя к высокому выходу качественной РНК и ДНК.
- **Оптимизированные протоколы** – тщательная отработка методик, специально созданных для работы совместно с системой KingFisher Flex с 96-канальной магнитной головкой для глубоких лунок, исключает перекрёстную контаминацию образцов.



## мРНК

В обычных клетках млекопитающих поли(А) РНК или матричная РНК (мРНК) составляет только 1-5% от общей РНК. Однако, с помощью наборов Dynabeads™ mRNA DIRECT™ Kits можно специфично захватить и выделить транскриптомную мРНК из широчайшего спектра неочищенных стартовых образцов. Эти наборы специально разработаны для простого и быстрого выделения чистой, неповреждённой поли(А) РНК непосредственно из неочищенного лизата клеток и тканей растений и животных. Выделенная таким образом мРНК подходит для дальнейшего использования в любых приложениях.

### Ключевые особенности наборов Dynabeads mRNA DIRECT Kits

- **Быстрота** - для получения чистой неповреждённой мРНК требуется 15 минут.
- **Выделение РНК высокой чистоты** - оптимальный подготовительный этап для синтеза кДНК
- **Точное выделение мРНК** – делает возможным синтез кДНК и создание библиотек кДНК при работе с ультрамалыми количествами образцов
- **Удобство** – методы для наборов Dynabeads mRNA DIRECT Kits предварительно загружены в программу системы KingFisher Flex с 96-канальной магнитной головкой для глубоких лунок.

# Ключевые особенности, идеально подходящие для автоматизации

Продукты Invitrogen™ Dynabeads™ упоминаются в публикациях намного чаще, чем другие магнитные частицы для иммунопреципитации (ИП). Для

продуктов Dynabeads совместно с системой KingFisher разработаны автоматизированные протоколы ИП.

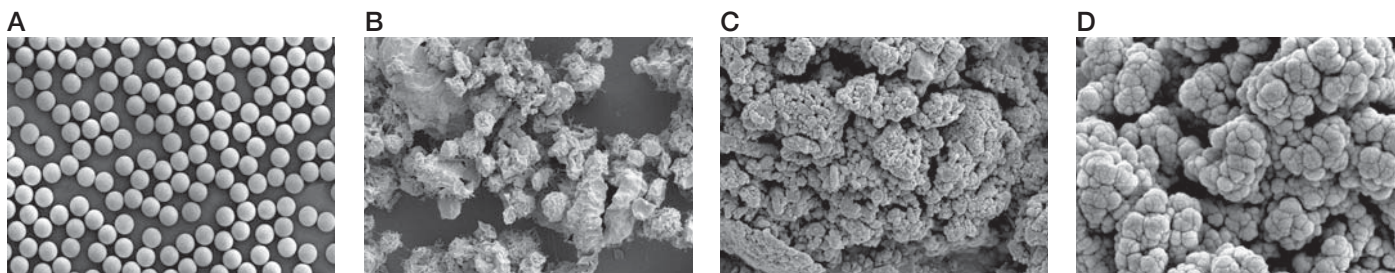
## Ключевые особенности, идеально подходящие для автоматизации

Высокая воспроизводимость является визитной карточкой частиц Dynabeads. Все частицы, как внутри одной, так и в различных партиях, идентичны по размеру, форме, свойствам поверхности и содержанию железа (Рисунок 4). Все частицы хорошо диспергируются и медленно оседают, но ускоряют движение при приближении к магниту.

Эти свойства способствуют быстрому связыванию мишени, короткому времени инкубации и сепарации. Частицы не слипаются, обеспечивая однородность жидкой среды в автоматизированных системах, и могут рассматриваться как способная к пипетированию твердая фаза, которая ведет себя как жидкость. Магнитные частицы обеспечивают эффективную иммунопреципитацию белков в автоматизированных системах, приводя к результатам, сопоставимым с протоколами ИП в ручном режиме (Рисунок 5-8).

## Основные особенности продуктов Dynabeads

- **Слабый фон** - от незначительного до отсутствия неспецифического связывания
- **Высокая воспроизводимость** - однородность частиц обеспечивает стабильные результаты.
- **Высокая чувствительность: технология Dynabeads** — это наиболее подходящий метод для таких специфичных исследований, как ИП хроматина (ChIP) и редких белков.
- **Скорость** – время протокола менее 40 минут
- **Простота** - нет центрифугирования и этапов предварительной очистки
- **Экономия антител** – связывание происходит на гладкой наружной поверхности частиц, что сохраняет драгоценные антитела и обеспечивает экономию для каждого исследуемого образца.



**Рисунок 4. Выбор магнитных частиц влияет на результаты исследований.** Связывающая поверхность магнитных частиц Dynabeads имеет четкие очертания, в то же время, они лишены внутренней поверхности, способной захватывать нежелательные белки. (A) Частицы Dynabeads – однородные монодисперсные и суперпарамагнитные частицы, изготовленные с усиленным контролем качества, обеспечивают высокую воспроизводимость. (B/D) Магнитные частицы из альтернативных источников имеют неровные размер и форму, являющиеся ловушкой для примесей, что снижает воспроизводимость и повышает неспецифическое связывание.

«Наконец-то мы нашли способ сократить общее время протокола с 4-х до 1 дня! Теперь мы можем анализировать несколько сотен образцов в 1 фазе клинических исследований в сочетании с масс-спектрометрией, используя KingFisher Flex и новый протокол Dynabeads IP»

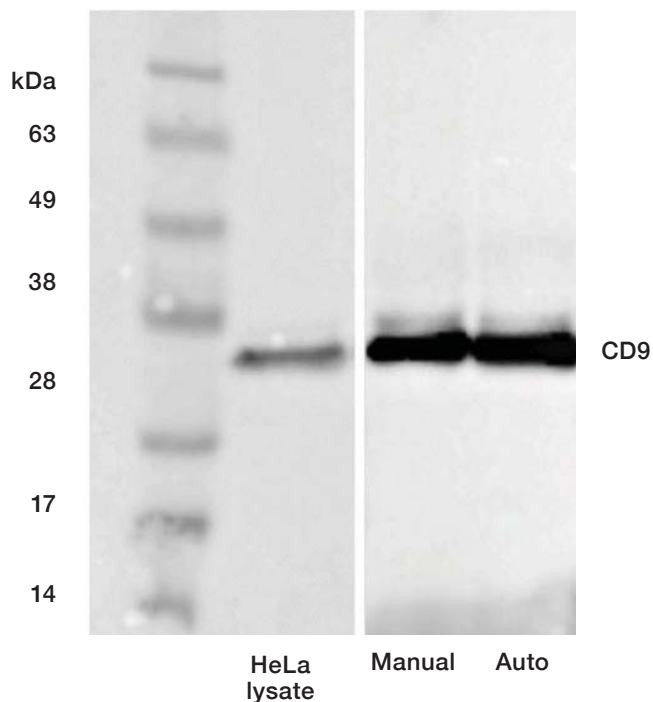
**Эрик Портелиус,**  
профессор, отделение неврологии  
и физиологии, Университет Гетеберга

«Протоколы были протестированы в репликатах и показали высокую воспроизводимость и надежность»

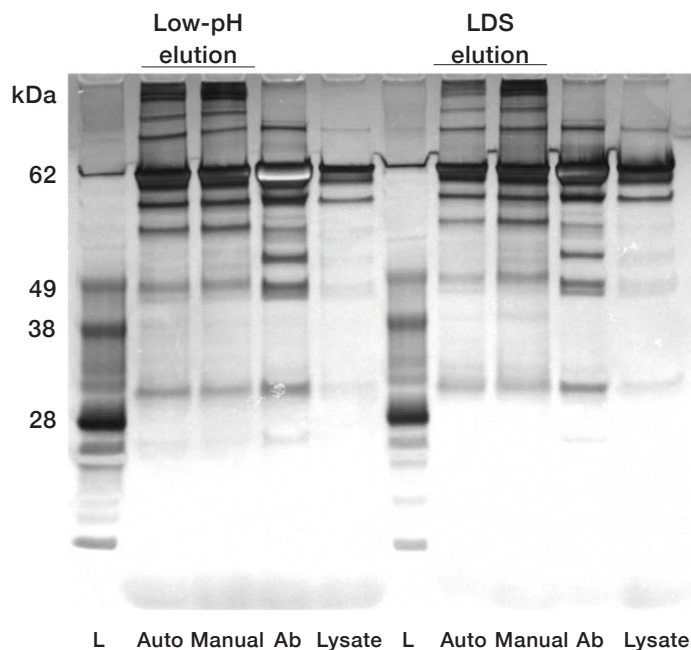
**Доктор Том Бредшнейдер,**  
Берингер Ингельхайм

**В 77% публикаций с использованием системы Thermo Scientific KingFisher для иммунопреципитации ученые используют технологию Dynabeads**

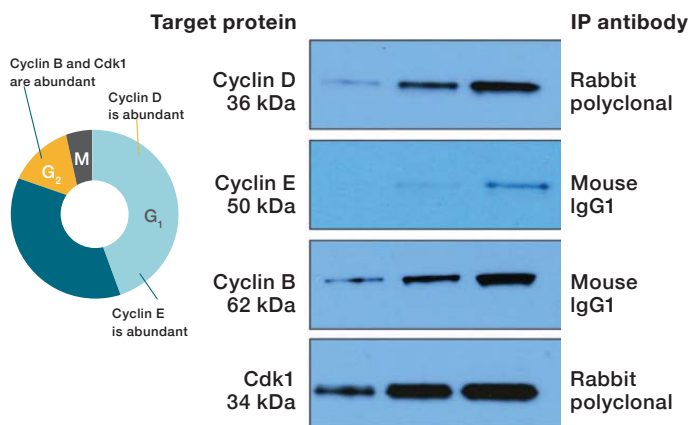
**77%**



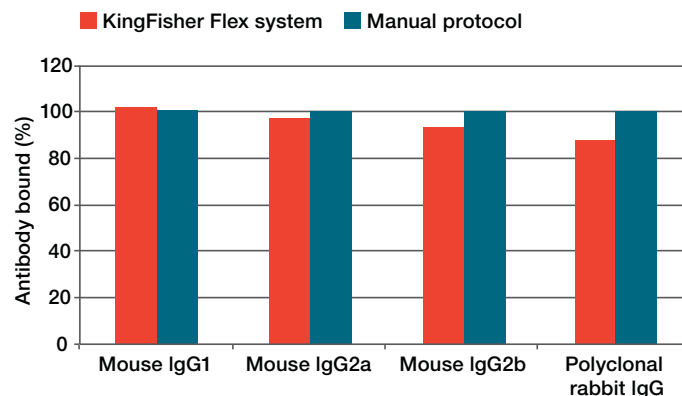
**Рисунок 5. Выход иммунопреципитации.** Иммунопреципитация лизата клеток HeLa с помощью Invitrogen™ Dynabeads™ Protein G, связанных с anti-human CD9 антителами, демонстрирует похожие результаты, как в случае ручного протокола, так и при автоматизированном протоколе с системой KingFisher Flex. Белок CD9 детектировали методом Вестерн-блоттинга.



**Рисунок 6. Детекция неспецифического связывания.** При автоматизированных и ручных методах наблюдается равнозначное неспецифическое связывание. ИП производили с помощью Dynabeads Protein G связанным с иррелевантным антителом, с использованием ручного или автоматизированного протокола с системой KingFisher Flex. Белок элюировали в мягких (низкий pH) или денатурирующих (LDS) условиях и выявляли окрашиванием серебром после SDS-ПААГ в системе Invitrogen™ Bolt™.



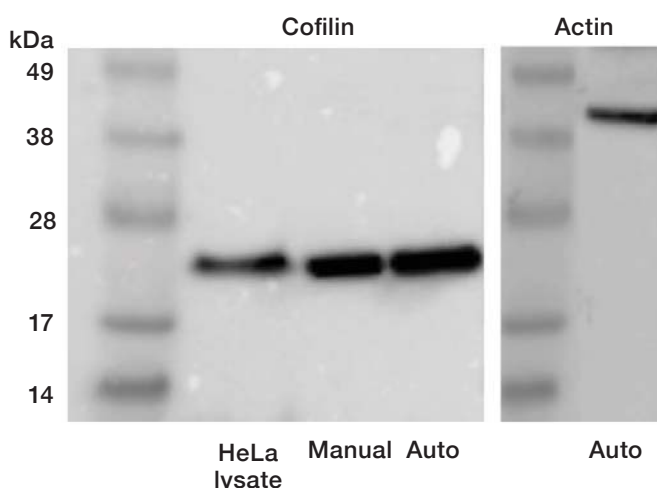
**Рисунок 7. Эффективная иммунопреципитация белков клеточного цикла.** Клетки U2OS были синхронизированы и выращены до определенных стадий клеточного цикла, как показано на рисунке, и потом взяты на исследование. Лизированные клетки инкубировали в течение ночи при температуре 4°C с антителами к белкам клеточного цикла. Каждый комплекс антиген-антитело был захвачен магнитными частицами Thermo Scientific™ Pierce™ Protein A/G в объеме 50 мл с использованием системы KingFisher Flex. Элюированные образцы объемом 5 мл, 10мл и 20 мл разделяли SDS-ПААГ электрофорезом и анализировали методом Вестерн-блоттинга.



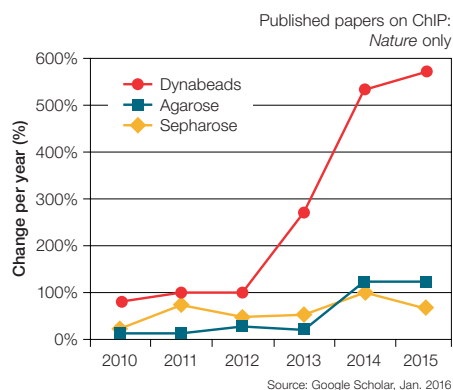
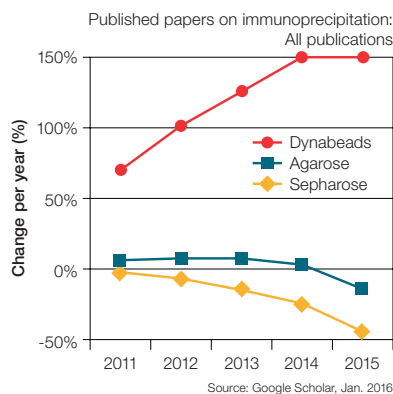
**Рисунок 7. Сходные результаты эффективности связывания антител различных подклассов, измеряемых с помощью системы детекции иммуноанализа.** Антитела связывали с Dynabeads Protein G в течение 10 минут с помощью ручного протокола (синий цвет), или автоматизированного протокола системы KingFisher Flex (красный цвет).

## Преимущества продуктов Dynabeads для выделения белковых комплексов

- Быстрое и простое осаждение интактных функциональных белковых комплексов (Рисунок 9)
- Отсутствие трудоёмких этапов подготовки.
- Выделение только интересующих вас белков
- Возможность адаптации к высокопроизводительным приложениям
- Рост числа публикаций с применением продуктов Dynabeads для ИП в сравнении с другими продуктами для выделения белков (Рисунок 10)



**Рисунок 9.** Ко-ИП из клеточного лизата HeLa с помощью Invitrogen™ Dynabeads™ анти-кроличьих IgG овцы связанных с антикофилиновыми антителами. Вестерн-блоттинг демонстрирует успешную ко-иммунопреципитацию актина со своим связывающим партнером кофилином при помощи автоматизированного протокола системы KingFisher Flex.



**Рисунок 10.** Тренды в количестве публикаций с ИП.

«Dynabeads является несомненно лучшей технологией для выделения комплексов, которую мы так давно искали»

Д-р Мишель П. Роут Университет Рокфеллера

## Руководство по выбору продукции

Покрываемые частицы	Требуемый лиганд	Основные преимущества для ИП	Совместимость с высокопроизводительными системами	Совместимость с масс-спектрометрией	Продукция
Protein A, Protein G	Первичные антитела различных видов; белки A и G связывают антитела различных видов и подклассов с различной специфичностью.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Очень простые и легкие протоколы для Dynabeads</li> <li>• Низкое неспецифическое связывание</li> <li>• Высокая воспроизводимость</li> </ul>	Системы KingFisher Flex и KingFisher Duo Prime	Средняя*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dynabeads Protein A</li> <li>• Набор Dynabeads Protein A IP Kit</li> <li>• Dynabeads Protein G</li> <li>• Набор Dynabeads Protein G IP Kit</li> <li>• Магнитные частицы Pierce Protein A/G</li> </ul>
Вторичные антитела	Мышиные или кроличьи иммуноглобулины (IgG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Специфическое связывание мышиных или кроличьих IgG</li> <li>• Низкое неспецифическое связывание</li> </ul>	Системы KingFisher Flex и KingFisher Duo Prime	Высокая	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dynabeads M-280 Sheep Anti-Mouse IgG</li> <li>• Dynabeads M-280 Sheep Anti-Rabbit IgG</li> </ul>
Стрептавидин	Любые биотиновые антитела или лиганды	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Связывается с любыми биотинилированными белками</li> <li>• Для образцов с большим кол-вом растворимых IgG</li> <li>• Для рекомбинантных антител без Fc-домена</li> </ul>	Системы KingFisher Flex и KingFisher Duo Prime	Высокая	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dynabeads M-280 Streptavidin</li> <li>• магнитные частицы Pierce Streptavidin</li> </ul>

\*Содержит детергент Tween™-20, который может влиять на результаты масс-спектрометрии.

## Часто задаваемые вопросы об автоматизированной иммунопреципитации

### Могу ли я изменить протокол согласно моим собственным требованиям?

Существующие протоколы оптимизированы под стандартную ИП, и могут использоваться в готовом виде, но возможность изменять параметры в соответствии Вашими требованиями существует. Например:

- Увеличить время инкубации магнитных частиц с образцом от 10 мин до 1 часа, если в образце присутствует малое количество белка или низкоаффинное антитело.
- Увеличить объем элюции от 30 до 100 мкл, если вы хотите увеличить выход белка и не используете Вестерн-блоттинг (Рисунок 11).
- Изменить условия от денатурации к мягкому элюированию, для получения функционального белка.

### Достаточно ли 10 минут для связывания большинства антител и белков с магнитными частицами Dynabeads?

При сравнении эффективности связывания антител в различных интервалах времени существенной разницы не обнаружено. Т.о. 10 минутной инкубации вполне достаточно (Рисунок 12).

### Если я перейду от своего обычного ручного протокола выделения к автоматизированной ИП с помощью Dynabeads, не пострадает ли качество выделения?

Мы тестировали автоматизированный протокол для стандартной ИП (прямые и непрямые методы) и ко-ИП для сравнения различных параметров, таких как связывающая способность антител, целевое выделение белка, неспецифическое связывание и воспроизводимость.

## 4 развенчанных мифа о ИП

Посмотрите нашу серию видео о развенчании мифов по ссылке [thermofisher.com/ipmyths](http://thermofisher.com/ipmyths)

Миф	Факт
Невозможно избежать фона	Фон практически полностью исчезает при использовании магнитных частиц Dynabeads, потому что все антитела достигаемы на гладкой поверхности частиц, ограничивая неспецифичный фон.
Предварительная очистка необходима для получения хороших результатов ИП	Этап предварительной очистки не является необходимым при использовании магнитных частиц Dynabeads. Вы можете сэкономить время и деньги, используя только половину твердой фазы.
Высокая связывающая способность хороша для ИП	Высокая связывающая способность частиц сефарозы обусловлена большой площадью поверхности, которая, также, может улавливать значительное количество нежелательных белков, т.о. увеличивая потерю антител. Даже с этапами интенсивной отмывки, все равно возникнет нежелательный фон. Самый лучший вариант для ИП – это хорошая связывающая способность с высоким выходом.
Магнитные частицы Dynabeads стоят дорого	Без этапа предварительной отмывки и с меньшим количеством используемых антител, магнитные частицы Dynabeads помогают экономить ваши деньги благодаря балансу оптимальной связывающей способности, высокого выхода продукта, его чистоте и воспроизводимости результатов.

Для получения более детальной информации перейдите по ссылке [thermofisher.com/immunoprecipitation](http://thermofisher.com/immunoprecipitation)

Посмотреть дополнительные видео о ИП можно по ссылке [youtube.com/immunoprecipitation](http://youtube.com/immunoprecipitation)

- Миф об 11, видео
- Основные направления публикаций об иммунопреципитации – Причины изменений
- Интерактивное руководство по иммунопреципитации

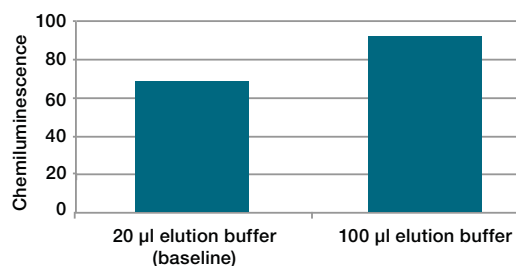


Рисунок 11. Увеличение выхода белка при элюции в 100 мкл элюирующего буфера.

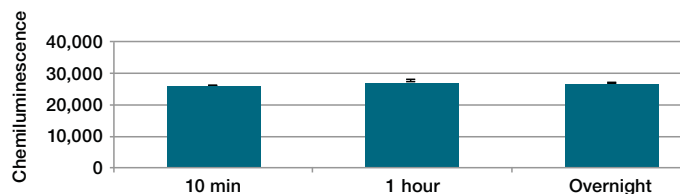


Рисунок 12 Различное время инкубации Dynabeads Protein G с мышиным IgG1 в системе King Fisher Flex.

Мы не обнаружили существенной разницы в результатах, полученных в режимах автоматизированного и ручного протоколов.

### Какие параметры являются наиболее критичными для протокола ИП?

Автоматизированные протоколы ИП являются хорошей отправной точкой для вашего протокола ИП или выделения белка, но вы можете настроить некоторые параметры, включая объем, время инкубации и условия элюирования. Многие параметры могут быть успешно изменены, но некоторые изменения могут поменять выход конечных продуктов. Таким образом, старайтесь избегать корректировки следующих параметров:

- Условия смешивания после связывания антител
- Число стадий отмывки после связывания антител

## Информация для заказа

Описание	Кат. номер
<b>Инструменты</b>	
KingFisher Flex с магнитной головкой для 24-луночного планшета с глубокими лунками	5400640
KingFisher Flex с магнитной головкой для 96-луночного планшета с глубокими лунками	5400630
Система выделения KingFisher Duo Prime	5400110
<b>Расходные материалы для системы KingFisher Flex</b>	
Гребенки наконечников и 24-луночные планшеты с глубокими лунками KingFisher Flex	97002610
24-луночные планшеты с глубокими лунками	95040480
96-канальные гребенки для планшетов с глубокими лунками (такие же, как Кат. №. 4388487)	97002534
96-луночные планшеты (так же, как Кат. № 4388475)	97002540
96-луночные планшеты с глубокими лунками (так же, как Кат. № 4388476)	95040450
<b>Расходные материалы для системы KingFisher Duo Prime</b>	
12-канальные гребенки для 96-луночных планшетов с глубокими лунками	97003500
6-канальные гребенки для 24-луночных планшетов с глубокими лунками	97003510
Стрипы для элюции	97003520
Комбинированный набор для 96-луночного планшета с глубокими лунками (гребенки наконечников, планшеты и стрипы для элюции с колпачками на 96 образцов)	97003530
<b>Наборы для выделения нуклеиновых кислот</b>	
Набор MagMAX mirVana Total RNA Isolation Kit	A27828
Набор MagMAX DNA Multi-Sample Ultra Kit	A25597
Набор MagMAX FFPE DNA/RNA Ultra Kit	A31881
Набор MagMAX Total Nucleic Acid Isolation Kit	AM1840
Набор MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit	A29319
Набор MagMAX Pathogen RNA/DNA Kit	4462359
Набор Dynabeads mRNA DIRECT Purification Kit	61011
<b>Наборы для выделения и иммунопреципитации белков</b>	
Dynabeads Protein A	10002D
Dynabeads Protein G	10004D
Магнитные частицы Pierce Protein A/G	88803
Dynabeads M-280 Sheep Anti-Mouse IgG	11202D
Dynabeads M-280 Sheep Anti-Rabbit IgG	11204D
Стрептавидин Dynabeads M-280	11206D
Магнитные частицы Pierce Streptavidin	88817

# 000 «Диаэм»

[www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)

**Москва**  
ул. Магаданская,  
д. 7, к. 3  
тел./факс:  
(495) 745-0508  
sales@dia-m.ru

**Новосибирск**  
пр. Акад.  
Лаврентьева, д. 6/1  
тел./факс:  
(383) 328-0048  
nsk@dia-m.ru

**Казань**  
ул. Парижской  
Коммуны, д. 6  
тел./факс:  
(843) 210-2080  
kazan@dia-m.ru

**С.-Петербург**  
ул. Профессора  
Попова, д. 23  
тел./факс:  
(812) 372-6040  
spb@dia-m.ru

**Ростов-  
на-Дону**  
пер. Семашко, д. 114  
тел./факс:  
(863) 250-0006  
rnd@dia-m.ru

**Пермь**  
Представитель  
в УФО  
тел./факс:  
(342) 202-2239  
perm@dia-m.ru

**Воронеж**  
Представитель  
тел./факс:  
(473) 232-4412  
voronezh@dia-m.ru

**Армения**  
Представитель  
тел.  
094-01-01-73  
armenia@dia-m.ru