

Add&Read Human CD47/SIRP α Kit

DD2207



Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazyme.com
Tel: +86-400-600-9335
Sales: sales@vazyme.com
Support: support@vazyme.com



使用说明书
Version 22.1

目录 Contents

01/产品概述	02
02/产品组分	02
03/保存条件	02
04/适用范围	03
05/自备材料	03
06/注意事项	03
07/实验流程	03
07-1/试剂配制	03
07-2/样品准备	04
07-3/反应体系	04
08/数据处理	05

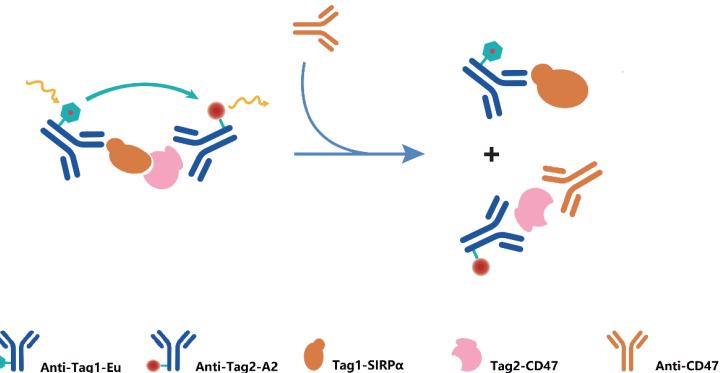
*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

01/产品概述

Human CD47/SIRP α Kit用于检测CD47和SIRP α 的结合，可快速、高通量筛选CD47和SIRP α 的抑制剂。

试剂盒中有Tag1-SIRP α 和Tag2-CD47两种蛋白，以及两株抗体，分别为：Anti-Tag1(标记荧光供体Eu, Anti-Tag1-Eu); Anti-Tag2(标记荧光受体A2, Anti-Tag2-A2)。

当CD47和SIRP α 发生相互作用时，Anti-Tag1-Eu和Anti-Tag2-A2距离靠近，可发生荧光共振能量转移(FRET)。使用320 nm的激发光激发Eu，供体发射620 nm的光，此620 nm的光激发荧光受体A2，受体发射出665 nm的光。加入抑制剂会阻断CD47/SIRP α 的相互作用从而破坏FRET形成，抑制强度和FRET信号(665/620)成反比。



Anti-Tag1-Eu



Anti-Tag2-A2



Tag1-SIRP α



Tag2-CD47



Anti-CD47

02/产品组分

组 分	DD2207-01(500 tests)	DD2207-02(5,000 tests)
Tag1-SIRP α	40 μ l	400 μ l
Tag2-CD47	40 μ l	400 μ l
Standard	200 μ l	500 μ l
Anti-Tag1-Eu	40 μ l	400 μ l
Anti-Tag2-A2	40 μ l	400 μ l
Diluent	20 ml	55 ml
Detection buffer	7 ml	55 ml

03/保存条件

Human CD47/SIRP α Kit于-85 ~ -65°C保存，干冰运输；
 Tag1-SIRP α 、Tag2-CD47和Standard于-85 ~ -65°C保存，避免反复冻融；
 Anti-Tag1-Eu和Anti-Tag2-A2于-30 ~ -15°C保存，避免反复冻融；
 Diluent和Detection buffer于-20 ~ 4°C保存。

04/适用范围

细胞上清、纯化后蛋白

05/自备材料

96/384浅孔板

酶标仪(配置HTRF/TR-FRET模块)

06/注意事项

- Anti-Tag1-Eu与Anti-Tag2-A2建议在储存液条件下(50 ×)分装于-30 ~ -15°C保存，避免反复冻融。
- Tag1-SIRPa与Tag2-CD47建议在储存液条件下(50 ×)分装于-85 ~ -65°C保存，避免反复冻融。
- Standard分装于-85 ~ -65°C保存，避免反复冻融。
- Tag1-SIRPa和Tag2-CD47在加样之前禁止混合。

07/实验流程

07-1/试剂配制

1. Anti-Tag1-Eu和Anti-Tag2-A2工作液配制(储存液为50 ×)

96/384浅孔板的反应体积为20 μl，建议每20 μl体系各加入4 μl Anti-Tag1-Eu和Anti-Tag2-A2工作液。在配制之前计算所需的Anti-Tag1-Eu和Anti-Tag2-A2体积：V=(孔数 × 4/50) μl。

◇ Anti-Tag1-Eu工作液配制：

- 将Anti-Tag1-Eu从冰箱中取出，室温放置使其溶解，为50 ×储存液。
- 向1体积Anti-Tag1-Eu (V μl)中加入49体积Detection buffer (49V μl)，混合均匀。

◇ Anti-Tag2-A2工作液配制：

- 将Anti-Tag2-A2从冰箱中取出，室温放置使其溶解，为50 ×储存液。
- 向1体积Anti-Tag2-A2 (V μl)中加入49体积Detection buffer (49V μl)，混合均匀。
- ▲ Anti-Tag1-Eu与Anti-Tag2-A2建议在储存液条件下(50 ×)分装于-30 ~ -15°C保存，避免反复冻融。**

2. Tag1-SIRPa和Tag2-CD47工作液配制(储存液为50 ×)

96/384浅孔板的反应体积为20 μl，建议每20 μl体系各加入4 μl Tag1-SIRPa和Tag2-CD47工作液。在配制之前计算所需的Tag1-SIRPa和Tag2-CD47体积：V=(孔数 × 4/50) μl。

◇ Tag1-SIRPa工作液配制：

- 将Tag1-SIRPa从冰箱中取出，室温放置使其溶解，为50 ×储存液。
- 向1体积Tag1-SIRPa (V μl)中加入49体积Diluent (49V μl)，混合均匀。

◇ Tag2-CD47工作液配制：

- 将Tag2-CD47从冰箱中取出，室温放置使其溶解，为50 ×储存液。
- 向1体积Tag2-CD47 (V μl)中加入49体积Diluent (49V μl)，混合均匀。
- ▲ Tag1-SIRPa与Tag2-CD47建议在储存液条件下(50 ×)分装于-85 ~ -65°C保存，避免反复冻融。**

3.Standard配制

96/384浅孔板的反应体系为20 μl/孔，每一个孔需要Standard 4 μl，在配制之前计算所需的Standard体积。

按照以下步骤配制方式可获得20 μl Standard。

- 将Standard从冰箱中取出，室温放置使其溶解，为Std 11。
- 取20 μl Std 11，加入20 μl Diluent，混合均匀，获得Std 10。
- 以同样方式2倍稀释，获得Std 9 - Std 1。

Standard	稀释方式	Standard 工作浓度 nM	Standard 终浓度 nM
Std 11	-	140	28
Std 10	20 μl Std 12 + 20 μl Diluent	70	14
Std 9	20 μl Std 11 + 20 μl Diluent	35	7
Std 8	20 μl Std 10 + 20 μl Diluent	17.5	3.5
Std 7	20 μl Std 9 + 20 μl Diluent	8.75	1.75
Std 6	20 μl Std 8 + 20 μl Diluent	4.375	0.875
Std 5	20 μl Std 7 + 20 μl Diluent	2.188	0.4375
Std 4	20 μl Std 6 + 20 μl Diluent	1.094	0.21875
Std 3	20 μl Std 5 + 20 μl Diluent	0.547	0.109
Std 2	20 μl Std 4 + 20 μl Diluent	0.273	0.055
Std 1	20 μl Std 3 + 20 μl Diluent	0.137	0.027
Std 0	20 μl Diluent	0	0

▲ Standard分装于-85 ~ -65°C保存，避免反复冻融。

07-2/样品准备

样品使用Diluent或者新鲜配制的含0.5% BSA，pH 7.0 的buffer进行稀释。

07-3/反应体系

1. 加样

96/384浅孔板反应体积为20 μl，按照下表实验分组及反应体系进行样品加样。

Standard/样品	阳性对照	阴性对照	Eu对照	Buffer对照
Standard/样品	4 μl	-	-	-
Tag1-SIRPa	4 μl	4 μl	-	-
Tag2-CD47	4 μl	4 μl	-	-
Anti-Tag1-Eu	4 μl	4 μl	4 μl	4 μl
Anti-Tag2-A2	4 μl	4 μl	4 μl	-
Diluent	-	4 μl	12 μl	12 μl
Detection buffer	-	-	-	4 μl
				8 μl

2.试剂添加顺序为：

- 向96/384孔板中加入4 μ l Standard/样品。
 - 加入4 μ l Tag1-SIRP α , 用移液器在加样孔内轻柔混合两次。
 - 加入4 μ l Tag2-CD47, 用移液器在加样孔内轻柔混合两次。
 - 将Anti-Tag1-Eu和Anti-Tag2-A2以体积1:1混合均匀, 向反应体系加入8 μ l, 用移液器在加样孔内轻柔混合两次。
- ▲ Tag1-SIRP α 和Tag2-CD47在加样之前禁止混合。

室温或者25°C孵育2 h, 用酶标仪(配置HTRF/TR-FRET模块)检测, 激发光为320 nm, 检测两个波长(665 nm和620 nm)的发射光。

08/数据处理

将665 nm的荧光值除以620 nm的荧光值, 获得665/620值。以 \log_{10} [样品终浓度]为横坐标, 665/620的值为纵坐标, 曲线拟合进行曲线的制作。

Std No.	[Standard], nM	665/620
Std 11	28	0.1077
Std 10	14	0.1056
Std 9	7	0.1123
Std 8	3.5	0.1741
Std 7	1.75	0.5944
Std 6	0.875	0.8412
Std 5	0.4375	1.0123
Std 4	0.2188	1.0835
Std 3	0.1094	1.1575
Std 2	0.0547	1.1222
Std 1	0.0273	1.1420
Positive control	0	1.1514
Negative control	-	0.1078

