

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

Flag Tag 琼脂糖凝胶

Flag Tag 琼脂糖凝胶

产品描述

TargetMol 的 Flag Tag 琼脂糖凝胶将鼠源抗 DYKDDDDK (Flag) 单克隆抗体高密度定向偶联到高度交联的琼脂糖凝胶微球表面, 可特异性地与带有 Flag 标签的蛋白结合。

TargetMol 的 Flag Tag 琼脂糖凝胶可以用于蛋白质及蛋白质复合物的免疫沉淀 (IP) 和免疫共沉淀 (Co-IP), 也可用于抗体的纯化。本品适用于细胞裂解物、细胞分泌上清、血清、腹水等来源的抗原样品。

产品特点

- 物理化学稳定性良好
- 配基不易脱落
- 耐用性强
- 使用便捷

产品信息

Flag Tag 琼脂糖凝胶	特性
基质	高度交联的 4%琼脂糖凝胶
粒径	30-100 μm
配体	鼠源抗 Flag 单克隆抗体
结合能力	≥ 1.0 mg Flag 标签蛋白/mL 凝胶
浓度	50% (v/v)

产品应用

- 蛋白质及蛋白质复合物的免疫沉淀 (IP) 和免疫共沉淀 (Co-IP)
- Flag 标签蛋白纯化

操作说明

自备试剂

试剂	可选配方
洗涤缓冲液 Washing Buffer (1 \times)	TBST: 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1%(v/v) Tween-20, pH7.4
Flag 多肽洗脱缓冲液 Flag Peptide Elution Buffer	PBS, 1 mg/mL 3 \times Flag peptide (TP1274), pH 7.4
酸性洗脱缓冲液 Acidity Elution Buffer	0.1 M Glycine, 0.1% (v/v) Tween-20, pH2.5
中和缓冲液 Neutralization Buffer	1 M Tris-HCl, pH 9.0

1. 细胞裂解液制备

选择合适的裂解液处理细胞样品，按照标准步骤制备细胞裂解液，置于冰上备用，或于-20°C长期保存。

2. 凝胶预处理

- 1) 将琼脂糖凝胶用漩涡振荡器振荡 1 min，使凝胶重新悬浮，取 25~50 μ L 凝胶悬液放入 1.5 mL EP 管中。
- 2) 向 EP 管中加入 500 μ L Washing Buffer 进行洗涤，温和翻转 EP 管数次，使凝胶重新悬浮。
- 3) 将 EP 管放入离心机，1000 rpm 离心 5 min，使凝胶沉降到离心管底部后弃去上清。重复上述洗涤步骤 1 次。

3. 免疫沉淀步骤

- 1) 向 EP 管中加入制备好的含有 Flag 标签标记的蛋白样品，将 EP 管放在旋转混合仪上，在室温下孵育 1-2 h，或在 4°C 下孵育 2-4 h。
- 2) 孵育结束后，1000 rpm 离心 5 min，收集凝胶，弃去或保存上清以供后续分析。
- 3) 向 EP 管中加入 1000 μ L Washing Buffer 进行洗涤，轻柔混匀 5~10 min。1000 rpm 离心 5 min，收集凝胶，弃去上清。再重复洗涤 2 次。

4. 抗原洗脱

提供以下几种抗原洗脱方案，用户可根据后续检测的需要选择不同的洗脱方法。

- 1) 变性洗脱法：此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。向 EP 管中加入 100 μ L SDS-PAGE Loading Buffer (自备)，混合均匀，95°C加热 5 min。然后进行离心分离凝胶，收集上清液，进行 SDS-PAGE 检测。
- 2) 中性洗脱法：向 EP 管中加入 50 μ L Flag Peptide Elution Buffer，置于旋转混合仪上在 37°C孵育 5-10 min (低于 37°C时需适当延长孵育时间)。然后进行离心分离凝胶，收集上清液。为提高抗原回收率，可重复以上步骤。
- 3) 酸性洗脱法：向 EP 管中加入 100 μ L Acidity Elution Buffer，置于旋转混合仪上在 37°C孵育 5-10 min。然后进行离心分离凝胶，收集上清液。如需中和酸性洗脱液，可向 100 μ L 洗脱液中加入 50 μ L Neutralization Buffer，调整 pH 至中性。

保存条件

4°C, 2 年。

注意事项

1. 凝胶应保存在储存溶液中，防止干燥。
2. 在从保存管中取出琼脂糖凝胶之前，应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
3. 操作者可根据实际需求，利用抗体结合反应步骤和抗原结合反应步骤中收集的上清液，检测抗体、抗原与凝胶的结合情况。
4. 在 IP 实验中，不同类型的抗体和抗原结合的亲和力会有所不同。如果使用本试剂盒提供的缓冲体系未能获得理想的实验结果，操作者可以自行筛选和配制缓冲液进行实验。
5. 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，不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

