



## Anti-Flag 免疫磁珠

### 产品描述

Flag 磁珠将高质量的鼠源单克隆 Anti-Flag 抗体共价偶联在超顺磁性纳米微球表面,可特异性地与动植物或微生物裂解液、血清、腹水等中含有 Flag 标签的蛋白结合,从而用于带有 Flag 标签的融合蛋白或其蛋白复合物的免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)、免疫共沉淀(Co-IP)或纯化。

Anti-Flag Magnetic Beads (Anti-Flag 磁珠), 也被称为 Anti-DYKDDDDK Magnetic Beads, 可以特异性地结合 Flag 标签融合蛋白, 并可以借助磁力架等磁分离设备非常便捷地应用于带有 Flag 标签的融合蛋白或其蛋白复合物的免疫沉淀或纯化等实验。

### 订购信息

产品名称	货号	规格
Anti-Flag 免疫磁珠	AP62L172	1 mL

### 运输与保存

常温运输。4°C保存, 有效期 24 个月。

### 技术参数

粒径	200 nm
浓度	10 mg/mL
结合力	≥ 0.6 mg Flag-tagged fusion protein/mL of beads
适用范围	IP, CoIP

### 使用方法

#### 贴壁细胞样品

- 移去培养基, 用 PBS 洗细胞两次。
- 收集细胞至 1.5 mL EP 管内, 按比例加入 IP Lysis/Wash Buffer, 同时加入 PMSF 等相应的抑制剂, 混匀后置于冰上静置 5-20 min (期间混匀几次)。
- 4°C, 12000-16000 g, 10 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 (或置于 -80°C 长期保存)。

表 1. 培养皿 IP Lysis/Wash Buffer 推荐使用体积

培养皿大小/表面积	IP Lysis/Wash Buffer 体积
100 mm x 100 mm	500-1000 $\mu$ L
100 mm x 60 mm	100-300 $\mu$ L
6 孔板	100-200 $\mu$ L

#### 悬浮细胞样品

- 4°C、500-1000 g、10 min, 收集细胞, 弃上清。
- 用 PBS 洗细胞一次, 即用 PBS 将细胞团重悬, 4°C、500-1000 g、10 min, 收集细胞, 弃上清。
- 用预冷的 IP Lysis/Wash Buffer 重悬细胞。每 50mg 细胞使用 500 $\mu$ L IP Lysis/Wash Buffer。同时加入 PMSF 等相应的抑制剂, 混匀后置于冰上静置 5-20 min (期间混匀几次)。



4. 4°C, 12000-16000 g, 10 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 (或置于 -80°C 长期保存)。

### 血清样品

一般建议用 IP Lysis/Wash Buffer 稀释血清样品至目标蛋白浓度为 50~150 µg/mL, 置于冰上备用 (或置于 -20°C 长期保存)。

### 免疫复合物的制备

【注】: 样品所需的量和孵育时间均依赖于每个特定的抗体-抗原体系, 因而可能需要优化才能得到最大产量。

以下实验方案针对 2-10µg 亲和纯化的抗体, 根据需要可以按比例放大。

1. 在离心管中, 将每个样品的细胞裂解液与 2-10µg 免疫沉淀抗体结合。每个免疫沉淀反应推荐的总蛋白量为 500-1500µg。
2. 用 IP Lysis/Wash Buffer 将抗体以及制备好的样品稀释至 300-500µL。
3. 在室温下孵育 1-2 h, 或 4°C 过夜, 以形成免疫复合物。

### 免疫沉淀

【注】: 为保证磁珠均匀分布, 使用前通过反复颠倒或轻微涡旋混匀瓶中磁珠。

1. 将 25 µL (0.25 mg) 的 Anti-Flag Magnetic Beads 加入 1.5 mL 离心管中。
2. 向磁珠中加入 500 µL 预冷 PBS, 轻柔混匀。
3. 将离心管放入磁力架中收集磁珠到离心管的一边。去除上清。
4. 向离心管中加入 200-500 µL IP Lysis/Wash Buffer。颠倒离心管数次或轻微涡旋混匀 1 min。用磁力架收集磁珠。去除上清。
5. 将抗原样品/抗体混合物加入装有磁珠的离心管中, 保持混匀室温下孵育 1-2 h。
6. 用磁力架收集磁珠, 除去未结合的样品, 保存以备分析。
7. 向离心管中加入 500 µL IP Lysis/Wash Buffer, 轻柔混匀。收集磁珠, 弃上清。再重复洗两次。
8. **变性洗脱**: 向离心管中加入 80-100 µL SDS-PAGE Sample Loading Buffer (1×), 将样品置于 100°C 水浴或者金属浴中加热 10 min。通过磁力架分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。

【注】: 如需保持蛋白活性, 也可采用以下洗脱方式。

**低 pH 洗脱**: 向离心管中加入 100 µL Elution Buffer。保持混匀在室温下孵育离心管 5-10 min。通过磁力分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。每 100 µL 洗出液中加入 20 µL Neutralization Buffer 来中和低 pH。

### 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 请勿高速离心、干燥或冷冻磁珠, 这些操作会导致磁珠聚集而降低结合能力。
3. IP 实验中不同类型的抗体与抗原结合的亲和性是有区别的, 抗体与抗原结合还会受到 IP Lysis/Wash Buffer 的影响, 因此, 如使用本实验步骤不能获得最佳的实验结果, 可自行优化操作细节或者筛选及配制缓冲液进行实验, 推荐使用李记生物的相关产品, 参照相关产品推荐。
4. 微球使用前应充分振荡均匀。微球应保存在储存溶液中, 防止干燥。

### 相关产品推荐

1X PBS (无菌) (货号: AC08L011)

Western/IP 细胞裂解液 (带抑制剂) (货号: AP01L076)

蛋白示踪上样缓冲液 (5x) (货号: AP14L036)