



Anti-Flag 琼脂糖凝胶

产品描述

Anti-Flag Affinity Gel 可以实现高效快速的抗原分离。免疫沉淀试剂盒配有经过优化预制的缓冲液，为免疫沉淀实验提供了最佳的反应条件，增强了免疫沉淀实验的稳定性。本产品可广泛应用于细胞裂解物、细胞分泌上清、血清、腹水等样品中抗原的免疫沉淀反应。

订购信息

产品名称	货号	规格
Anti-Flag 琼脂糖凝胶	AP64L243	1 mL

运输与保存

常温运输。4℃保存，有效期 24 个月。

技术参数

Composition	mouse IgG monoclonal Ab
Matrix	4% cross-linked agarose
Particle size	90 μ m
Concentration	50% settled resin in TBS with 0.02% sodium azide
Binding Capacity	≥ 1 mg Flag-tagged fusion protein/mL of settled resin
Application	rProtein Purification, IP

使用方法

贴壁细胞样品

1. 移去培养基，用 PBS 洗细胞两次。
2. 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）。
3. 4℃, 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℃ 长期保存）。

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 μ L
100 mm x 60 mm	100-300 μ L
6 孔板	100-200 μ L

悬浮细胞样品

1. 1.4℃、500-1000 g、10 min，收集细胞，弃上清。
2. 用 PBS 洗细胞一次，即用 PBS 将细胞团重悬，4℃、500-1000 g、10 min，收集细胞，弃上清。
3. 用预冷的 IP Lysis/Wash Buffer 重悬细胞。每 50 mg 细胞使用 500 μ 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终浓度为 50~150 µg/mL, 置于冰上备用 (或置于 -20°C 长期保存)。

免疫沉淀

【注】: 为保证凝胶均匀分布, 使用前通过反复颠倒或轻微涡旋混匀瓶中凝胶。

1. 将 25 µL 的 Anti-Flag Affinity Gel 加入 1.5 mL 离心管中。
2. 向凝胶中加入 500 µL 预冷 PBS, 轻柔混匀。
3. 将离心管放入离心机中 1000rpm, 5min 收集凝胶到离心管的底部, 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。将离心管放入离心机中 1000rpm, 5 min 收集凝胶到离心管的底部, 去除上清。
5. 将制备好含有 Flag 标记蛋白的样品加入装有凝胶的离心管中, 保持混匀室温下孵育 2-4 h。
6. 离心 1000rpm, 5 min 收集凝胶, 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。收集凝胶, 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。通过离心分离凝胶, 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、干燥或冷冻凝胶, 这些操作会导致凝胶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 (5 x) (货号: AP14L036)