



Anti-Flag 免疫磁珠

产品描述

Anti-Flag 磁珠为直径 200nm 的纳米磁珠, 也被称为 Anti-DYKDDDDK Magnetic Beads, 表面共价结合了高质量的鼠源抗 Flag 单克隆抗体。纳米级磁珠由于高的表面积与体积比, 会提供更多结合位点, 磁珠使用量更少, 非特异性吸附率低。本产品广泛应用于细胞裂解液、细胞培养上清、血清、腹水等样品中的抗原免疫沉淀 (IP) 或免疫共沉淀 (Co-IP)。

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

蓝冰运输。4°C 保存, 有效期 24 个月。**注:** 避免冻融或离心磁珠。

技术参数

基质	硅基磁珠
配体	鼠源抗 DYKDDDDK 单克隆抗体
粒径	200 nm
磁珠浓度	10 mg/mL
结能合力	≥0.6 mg Anti-Flag 标签蛋白/mL 磁珠
适用范围	IP, Co-IP 等

使用方法

(一) 样本制备

对于贴壁细胞样品:

1. 移除培养基, 用 PBS 洗涤细胞两次。
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 5-20min, 期间需多次轻轻翻转混合以促进细胞裂解。
3. 在 4°C 条件下, 12000-16000g, 10 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验, 或存放于 -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	500-1000 μ L
60 mm	100-300 μ L
6 孔板	100-200 μ L

对于悬浮细胞样品:



1. 在 4°C 条件下, 500-1000g, 10min, 收集细胞, 弃上清。
2. PBS 重悬细胞, 4°C, 500-1000g, 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, 期间需多次轻轻翻转混合以促进细胞裂解。
4. 在 4°C 条件下, 12000 -16000g, 10 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验, 或存放 -80°C 长期保存。

对于血清样品:

通常建议使用 IP Lysis/Wash Buffer 将血清样品稀释至目标蛋白的最终浓度介于 50 至 150 μ g/mL。稀释后的样品可置于冰上以备, 或存放于 -20°C 以便长期保存。

(二) 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 25-50 μ L Anti-Flag 磁珠加入 1.5 mL 离心管中。
2. 向磁珠中加入 500 μ L 预冷 PBS, 轻柔混匀, 使用磁力架分离磁珠, 弃去上清。
3. 向离心管中加入 00-500 μ L IP Lysis/Wash Buffer, 颠倒离心管数次或轻微涡旋混匀 1min。用磁力架分离磁珠, 弃去上清。
4. 将抗原样品/抗体免疫复合物加入装有磁珠的离心管中, 混匀仪上室温孵育 1-2 h, 或 4°C, 2-4 h。
5. 用磁力架分离磁珠, 除去未结合的样品, 并保存以备分析。
6. 向离心管中加入 1000 μ L IP Lysis/Wash Buffer, 轻柔混匀 5-10min, 收集磁珠, 弃上清。再重复洗两次。
7. **变性洗脱:** 向离心管中加入 80-100 μ L SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (1 \times), 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, 收集含有目的抗原的上清进行后续实验。**注:** 当使用的一抗检测分子量在 50 或 25kDa 范围内的蛋白质时, 建议使用构象特异性二抗进行检测, 以尽量减少抗体重链或轻链的干扰; 如需保持蛋白活性, 也可采用以下洗脱方式:

低 pH 洗脱: 此方法为非变性洗脱法, 洗脱的样品保持原有的生物活性, 可用于后期功能分析。向离心管中加入 100 μ L 洗脱液 (0.1M 甘氨酸, pH2.5), 混匀在室温下孵育离心管 5-10 min。接着置于磁力架上静置约 30s, 待磁吸完全后, 收集上清至新的 Ep 管, 并立即加入 20 μ L 的中和缓冲液 (1M Tris-HCl, pH8.0), 将洗脱产物 pH 调节至中性, 样品用于后期功能分析。

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. 在免疫共沉淀 (IP) 实验中, 不同类型的抗体与其对应抗原之间的亲和力可能有所不同, 并且这种结合效率还可能受到 IP Lysis/Wash Buffer 的影响。若当前实验步骤未能获得理想结果, 建议调整操作细节或自行筛选及配制适合的缓冲液, 也可使用李记生物相关试剂, 详见底部。

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)