

# Anti-DYKDDDDK Tag 免疫磁珠

## 产品描述:

Anti-DYKDDDDK Tag免疫磁珠由高质量的鼠源IgG1重组抗体与纳米磁珠共价偶联制备, 具有较高的DYKDDDDK Tag标签融合蛋白加载容量 (至少为0.6 mg protein/mL) 以及非特异结合低的特点, 可用于蛋白质免疫共沉淀和少量蛋白质的纯化。

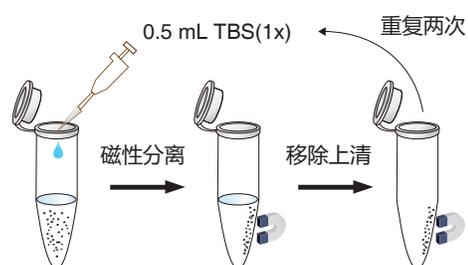
## 储存条件:

可于2-8°C储存2年。避免冻融或离心磁珠。

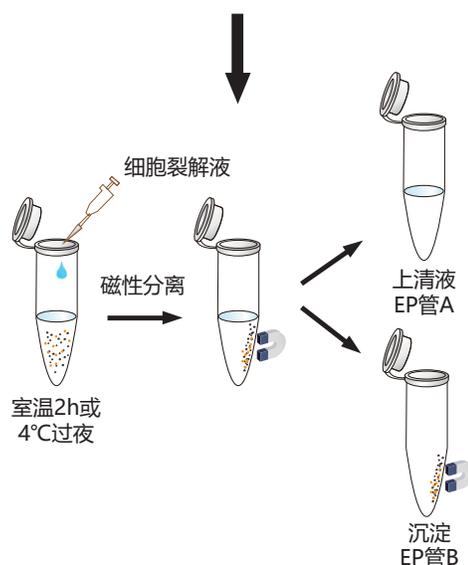
## 主要成分:

成分	Cat#: B26101	Cat#: B26102
免疫磁珠	1 mL	5 mL

## 实验方案



### 磁珠的准备

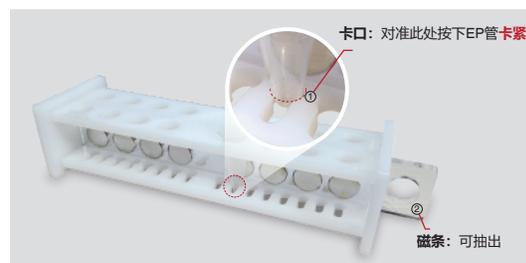


### 样品的结合

## 磁珠预处理

- 1、用移液枪轻柔吹打重悬Anti-DYKDDDDK Tag免疫磁珠, 转移20  $\mu$ L磁珠悬液到新的离心管中。
- 2、加入500  $\mu$ L TBS (50 mM Tris HCl, 150 mM NaCl, pH 7.4), 用移液枪轻柔吹打重悬磁珠, 磁力架上静置1~2 min (也可适当延长至5min), 去除上清, 重复上述步骤两次。

**注意:** 多个样品时, 可磁珠预处理后再分装到各个反应管中。去除上清时, 请用枪头轻轻吸取, 吸力过大可能会导致部分磁珠损失。



磁力架使用说明

## 样品的结合

- 3、在上述沉淀中加入200  $\mu$ L细胞裂解液, 用移液枪轻柔吹打重悬磁珠, 然后室温孵育2 h或者4 °C条件下过夜。
- 4、磁力架上静置1-2 min (可适当延长) 后, 将上清液转移到新的离心管中备用 (上清液可用于检测DYKDDDDK-tag蛋白是否存在残留)。

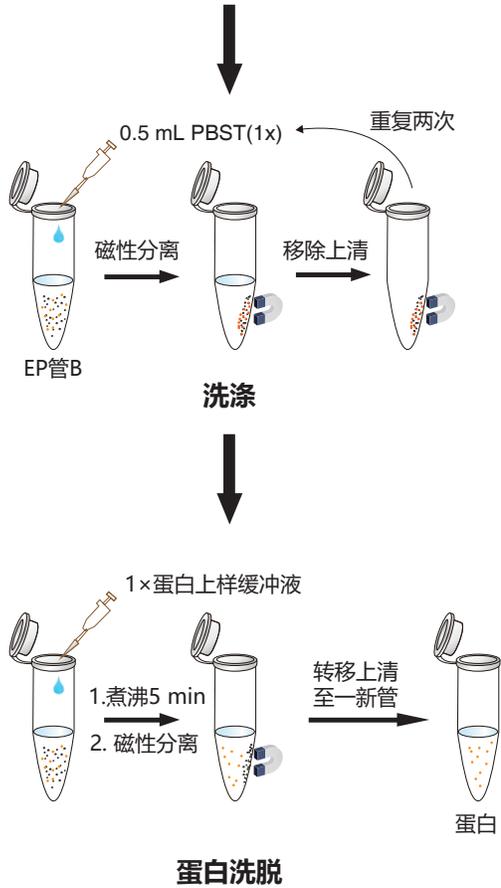
接下一页



订购 & 咨询

Tel: 400-668-6834

Email: info@selleck.cn



### 洗涤

5、向上述沉淀中加入500  $\mu$ L PBST (NaCl 136.89 mM; KCl 2.67 mM;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  8.1 mM;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.76 mM; 0.5% Tween20), 用手轻敲或轻柔地吹打重新分散磁珠, 然后上下翻转样品5 min。磁性分离后移除上清。

6、重复上述步骤两次。如遇到非特异性杂蛋白去除不干净的情况, 请延长清洗时间、增加清洗次数或适当增加清洗液中去垢剂的含量。

### 蛋白洗脱

根据下游用途选择不同的洗脱方法, 进行免疫共沉淀可直接进行7-8步; 进行蛋白纯化可根据后续实验, 选择多肽竞争性洗脱 (9-10步) 或低pH洗脱 (11-12步)。

**变性洗脱 (适用于利用anti-DYKDDDDK Tag beads进行免疫共沉淀实验) :**

7、对于直接检测目的蛋白的情况, 在上述所得沉淀中加入50  $\mu$ L 1 $\times$ 蛋白上样缓冲液, 煮沸5 min, 冷却至室温并在磁力架上静置1-2 min (可适当延长)。

8、取上清进行SDS-PAGE检测。

**Poly DYKDDDDK Tag多肽竞争性洗脱 (适用于利用anti-DYKDDDDK Tag beads进行蛋白纯化实验) :**

9、将含有200  $\mu$ g-1 mg/mL Poly DYKDDDDK Tag多肽 (B23111) 的TBS缓冲液加入步骤6的产物中, Poly DYKDDDDK Tag多肽缓冲液体积为磁珠使用量的5倍, 4 $^{\circ}$ C摇床孵育洗脱2 h (为了提高洗脱效率, 可延长孵育时间或重复洗脱)。

10、将上述步骤得到的产物进行磁性分离, 将包含目的蛋白的上清转移到新的EP管中。磁珠如需重复使用, 需用0.1 M glycine HCl (pH 3.0)进行清洗后再回收。

**低pH洗脱 (适用于利用anti-DYKDDDDK Tag beads进行蛋白纯化实验) :**

11、将0.1 M glycine HCl (pH 3.0)洗脱液加入步骤6中的产物中, 洗脱液体积为磁珠使用量的5倍, 摇床孵育洗脱5 min, 洗脱时间不得超过20 min。

12、将上述产物进行磁力分离, 取洗脱产物立即加入1 M Tris (pH 8.0)进行中和, 并调节pH直至中性。

## 常见问题指南:

常见问题	可能的原因	建议方法
高的背景条带	蛋白非特异结合到抗体, 磁珠或EP管上	选择合适的裂解液、洗涤液去除非特异吸附的蛋白; 在最后一次洗涤前, 转移整个样品到新的EP管中然后进行磁性分离。
	洗涤次数不够	增加洗涤的时间和次数。(洗涤后的上清液OD280值应小于0.05)
无蛋白条带	DYKDDDDK Tag 标签蛋白没有表达	确保目的蛋白带有DYKDDDDK Tag标签; 制备新鲜的裂解液; 使用恰当的蛋白酶抑制剂。
	孵育时间不足	增加孵育时间。
	样品中存在干扰物质	裂解液中存在高浓度的DTT, 2-mercaptoethanol或者其他的还原剂。

