

Poly FLAG多肽 (3X Flag多肽)

产品描述

Poly FLAG多肽(3X Flag多肽)是一种由23个氨基酸组成, 分子量为2864 Da的多肽, 能够通过竞争性结合Anti-Flag抗体, 从而在免疫沉淀时洗脱与Anti-Flag抗体结合的Flag融合表达蛋白。多肽中Asp-Tyr-Lys-Xaa-Xaa-Asp这一基序重复三次, 在碳端的8个氨基酸组成了经典的Flag标签 (Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys)。

产品性质

性状 (颜色)	白色
形式	冻干粉
HPLC-MS纯化	95.33 % (最新批次)
浓度	从Flag亲和凝胶上洗脱Flag融合蛋白时, 推荐的工作浓度是200-400 µg/mL
运输条件	蓝冰
储存温度	2-8°C

应用

主要用于结合到溶液中Anti-Flag单克隆抗体上的或者结合到Anti-Flag亲和凝胶上的FLAG融合蛋白竞争性的洗脱下来。

注意事项

- 1 使用前认真阅读使用说明;
- 2 在使用及储存亲和凝胶时避免冻融, 干燥或者高速离心;
- 3 该产品仅用于科学研究, 不能用于药物及其他用途。

操作流程

适用于从Anti-Flag亲和凝胶上进行FLAG融合蛋白的洗脱。

1. 将Flag亲和凝胶彻底重悬, 并迅速转移10 µL (大约包含了5 µL的凝胶珠) 的凝胶重悬液到新的EP管中;
2. 加入0.6 mL的TBS缓冲液, 使用移液枪混匀。5000 rpm离心30s, 去除上清。重复3-4次, 确保去除所有的洗涤液;
3. 加入500 µL的细胞裂解液到洗涤过的凝胶中;
4. 在要4°C摇床上孵育2h进行结合;
5. 5000 rpm离心30s, 上清液转移到新的离心管中保存以后检测。

6. 上步中得到的沉淀用0.5 ml TBS缓冲液洗3-4次, 至上清液中OD280 小于0.05 为止。

7. 通过竞争性Poly FLAG多肽将FLAG融合蛋白进行洗脱。将含有200-400 µg/mL Poly Flag多肽的TBS缓冲液加入上步得到的凝胶中, Poly FLag多肽缓冲液体积为凝胶体积的5倍, 4°C摇床孵育2 h (为了提高洗脱效率, 可延长孵育时间或重复洗脱) 。

8. Anti-Flag亲和凝胶回收。

Poly FLAG多肽可能难以将所有的FLAG融合蛋白全部洗脱下来, 建议通过使用5 mL的0.1 M glycine HCl (pH 3.5) 缓冲液洗涤三次, 将Anti-Flag亲和凝胶进行回收。回收后的Anti-Flag亲和凝胶立即使用TBS缓冲液进行平衡直到流出液pH值呈中性。

注意: 不要让Anti-Flag亲和凝胶留在glycine HCl缓冲液中超过20min。

9. 保存Anti-Flag亲和凝胶。

使用5 mL缓冲液1 (50% glycerol, 10mM sodium phosphate, 150 mM sodium chloride, 0.02% (w/v) 叠氮化钠, pH 7.4) 洗涤Anti-Flag亲和凝胶三次, 然后加入5 mL缓冲液2 (50% glycerol, 10 mM sodium phosphate, 150 mM sodium chloride, 0.02% (w/v) 叠氮化钠, pH 7.4) 并储存于-20°C避免干掉。

储存条件

储存该产品在2-8°C。

