

Biolinkedin® Poly FLAG 多肽 (3X Flag 多肽)

包装清单

| 名称 | 货号 | 包装 |
|--------------------------------|---------|------|
| Poly FLAG 多肽 (3X Flag 多肽) | L-7003 | 5mg |
| | L-7003A | 25mg |

产品概述

Biolinkedin® Poly FLAG 多肽(3X Flag 多肽)是一种由 23 个氨基酸组成, 分子量为 2862Da 的多肽, 能够通过竞争性结合 Anti-Flag 抗体, 从而在免疫沉淀或蛋白纯化时洗脱与 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-Lys)。

Poly FLAG 多肽(3X Flag 多肽)主要用于竞争性洗脱结合到 Anti-DYKDDDDK 琼脂糖凝胶和琼脂糖磁珠上的 DYKDDDDK 标签融合蛋白。

产品特性

| | |
|------|--|
| 性状 | 白色冻干粉 |
| 纯化方法 | HPLC-MS 纯化 |
| 纯度 | ≥97% |
| 使用浓度 | 洗脱 DYKDDDDK 标签融合蛋白时, 推荐的工作浓度是 0.2~0.5mg/mL |
| 保质期 | 在-20℃稳定保存一年 (一旦配成溶液, 请分装保存, 避免反复冻融造成的产品失效。储备液的保存方式和期限: -80℃ 储存时, 请在 6 个月内使用, -20℃ 储存时, 请在 1 个月内使用。) |

操作流程

配制方法:

该多肽为轻质粉末, 开盖前应 12000rpm 离心 3~5min。多肽本身为酸性, 配制时请关注 pH, 建议将 pH 调整为中性。建议将 1mL 1xPBS 溶液加至 5mg 多肽粉末中, 彻底溶解后, 制成 5mg/mL 储存液, -20℃ 保存。使用时用 1xPBS 稀释至需要的工作浓度。推荐使用工作浓度为 0.2~0.5mg/mL。

使用方法:

适用于从 Anti-DYKDDDDK 琼脂糖凝胶或

Anti-DYKDDDDK 琼脂糖磁珠上进行 DYKDDDDK 标签融合蛋白的洗脱。以 Anti-DYKDDDDK 琼脂糖凝胶举例说明, Anti-DYKDDDDK 琼脂糖磁珠需配合磁力架操作。

注意: 样品所需的量和孵育时间均依赖于每个特定的体系, 操作者可根据实际情况自行优化。

- 将 20~50μL 的 Biolinkedin® Anti-DYKDDDDK 琼脂糖凝胶加入 1.5mL 离心管中。
 - 向凝胶中加入 500μL 预冷 PBS, 轻柔混匀。
 - 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。可重复 1~2 次。
 - 将制备好含有 DYKDDDDK 标签标记的蛋白样品加入装有凝胶的离心管中, 保持混匀室温下孵育 1~2h, 或 4℃ 2~4h。
 - 1000rpm 离心, 5min 收集凝胶, 除去未结合的样品, 保存以备分析。
 - 向离心管中加入 1000μL PBS, 轻柔混匀 5~10min。收集凝胶, 弃上清。再重复洗两次。
 - 将含有 100μL 体积 0.2~0.5mg/mL 的 Poly FLAG 多肽 (若初始凝胶体积较大, 可酌量增加 Poly FLAG 多肽体积, 保证混合均匀) 加入步骤 6 的凝胶中, 4℃ 静置孵育 (不时轻轻混匀效果更佳) 2h (为了提高洗脱效率, 可延长孵育时间或重复洗脱), 收集洗脱液。
- 注意 1: 体积更大建议选择混匀效果更佳。**
- 注意 2: 有些蛋白质难于洗脱, 可将工作浓度调整至 1mg/mL 或更高浓度, 此时需要注意多肽溶液 pH 值, 避免对蛋白造成影响。**
- SDS-PAGE 鉴定蛋白质纯度及浓度, 并按照需求处理和保存蛋白质。

9. Anti-DYKDDDDK 琼脂糖凝胶清洗与再生

Poly FLAG 多肽竞争洗脱可能难以将所有的 DYKDDDDK 标签融合蛋白全部洗脱下来，如果纯化相同蛋白，Anti-DYKDDDDK 琼脂糖凝胶可以重复使用多次而不需要再生。如果要纯化的目标 DYKDDDDK 标签蛋白不同，则建议使用以下方案再生凝胶：

- 1) 用 PBS 的 2~5 倍凝胶体积洗涤凝胶。
- 2) 用甘氨酸 (0.1M, pH 3.0) 的 2~5 倍凝胶体积洗涤凝胶。
- 3) 用 5~10 倍凝胶的 PBS 重新平衡凝胶。
- 4) 为了长期储存，凝胶应储存在含有抑菌剂的 PBS 中，温度为 2~8°C。

注意： 避免 Anti-DYKDDDDK 琼脂糖凝胶停留在甘氨酸 (0.1M, pH 3.0) 缓冲液中不超过 20min。

注意事项

1. 进行实验操作之前，请务必认真阅读本操作说明书。
2. 本产品仅供科学研究使用。

相关产品

| 货号 | 产品名称 |
|--------|---------------------------|
| L-7001 | HA 标签多肽 |
| L-7002 | Myc 标签多肽 |
| L-7003 | Poly FLAG 多肽 (3X Flag 多肽) |