

Flag 标签蛋白纯化试剂盒

产品简介：

Flag 标签是一个由八个亲水氨基酸组成的多肽片段，定位在融合蛋白表面，因此更易与抗体结合以及被肠激酶分解。

Flag 标签蛋白纯化试剂盒是以抗 Flag(DYKDDDDK)抗体为亲和配体，一步纯化原核、酵母或哺乳动物细胞表达的 Flag 标签融合蛋白。Flag 标签蛋白纯化试剂盒里的纯化填料以 4%琼脂糖凝胶为基质，杂蛋白非特异性结合少，可用于 Flag 标签融合蛋白的纯化和免疫沉淀（IP）。

主要组分：

产品编号	预装柱	浓缩基础缓冲液（10X）	浓缩洗脱缓冲液(10X)	浓缩再生缓冲液(10×)
ATB06027 -1mL	1mL	30ml	15ml	15ml

储存条件：

储存缓冲液：含 20%乙醇的 1×PBS

储存温度：2-8℃，12 个月

使用方法：

1.样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用平衡液对样品或细胞培养液稀释,或者用平衡液透析。

样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质,提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

2.缓冲液的准备

基础缓冲液:按照实验所用量，取试剂盒中浓缩基础缓冲液，加入 9 倍体积的去离子水稀释成基础缓冲液；

洗脱液:按照实验所需用量，取试剂盒中浓缩洗脱液，加入 9 倍体积的去离子水稀释成洗脱液；

再生液:按照实验所需用量，取试剂盒中浓缩再生液，加入 9 倍体积的去离子水稀释成再生液；

缓冲液在使用之前建议用 0.22μm 或 0.45μm 滤膜过滤。

3.Flag Beads 纯化柱的准备

取出试剂盒中预装柱平衡到室温，打开纯化柱底部开关，用 3-5 个体积去离子水冲洗柱床，随后用 5-10 个柱床体积基础缓冲液平衡柱子，确保柱床无气泡。

4.从样品中纯化目标蛋白

- 1) 使用蠕动泵上样或者直接上样（重力法）；上样量不要超过柱子的结合能力。
- 2) 上样完毕后，用基础缓冲液洗掉未结合的杂蛋白，直到到紫外吸收监测仪达到一个稳定的基线（一般需要 10-15 个柱体积）；
- 3) 使用洗脱液洗脱目的蛋白，顺次接收并做好标记，直到到紫外吸收监测仪达到一个稳定的基线（一般需要 5-10 个柱体积）；
- 4) SDS-PAGE 检测分析得到的纯化样品（包括流穿组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品。

5.纯化柱清洗、再生与保存。

- 1) 5-10 倍柱床体积的洗脱缓冲液继续清洗；
- 2) 3 倍柱床体积的去离子水清洗；
- 3) 5-10 倍柱床体积的 0.1M NaOH 溶液；
- 4) 3 倍柱床体积去离子水清洗后于含 20%乙醇的 PBS 2-8℃保存。