使用说明书
Instruction Manual

Flag Tag 纳米抗体免疫沉淀磁珠
Flag Tag Nanobody Immunomagnetic Beads

产品描述

TargetMol 的 Flag Tag 纳米抗体免疫沉淀磁珠可特异性地与带有 DYKDDDDK（Flag）标签的蛋白结合，可以用于蛋白质、蛋白质复合物、蛋白质核酸复合物和其他抗原的免疫沉淀（IP）。本品适用于细胞裂解物、细胞分泌上清、血清、腹水等来源的抗原样品。

纳米抗体（Nanobody）是一类来源于骆驼科动物（如骆驼、羊驼）的天然重链抗体的可变区片段（VHH），是目前已知最小的天然功能性抗体结构单元，通常只有约 12–15 kDa，为传统 IgG 抗体的十分之一。纳米抗体较传统 IgG 抗体体积更小、亲和力更高、无轻重链干扰，能够更接近目标蛋白表位，减少空间位阻，同时不易脱落，洗脱条件温和，对样品保持更高的生物学活性。

产品特点

- 无抗体链干扰：无论使用变性或非变性洗脱，免疫沉淀产物中均不会混入抗体轻链或重链，便于后续 WB 分析。
- 超高亲和力：具 nM 级结合能力，适用于表达量低或难转染的细胞样本。
- 结合能力强：采用定向偶联工艺，10 μL 磁珠可结合约 15 μg 目标重组蛋白。
- 高特异性：经 10 余种空白细胞系验证，几乎无非特异性吸附。
- 标签识别灵活：可特异性结合 1×或 3×Flag 标签，可识别诱饵蛋白 N 端或 C 端的标签，兼容性广。
- 抗热稳定：经 45℃高温测试，耐受运输波动及常温放置，稳定可靠。

产品信息

Flag Tag 纳米抗体免疫沉淀磁珠	
粒径	2 μm
结合能力	≥ 1.5 mg Flag 标签蛋白/mL 磁珠
保存溶剂	20 mM PBS, 5% BSA
应用推荐	IP , Co-IP, ChIP、RIP

操作说明

自备试剂

试剂	可选配方
洗涤缓冲液 Washing Buffer (1×)	TBST: 50 mM Tris-HCl，150 mM NaCl, 0.1%(v/v) Tween-20，pH7.4
Flag 多肽洗脱缓冲液 Flag Peptide Elution Buffer	PBS，1 mg/mL 3× Flag peptide (TP1274)，pH 7.4
酸性洗脱缓冲液 Acidity Elution Buffer	0.1M Glycine，0.1% (v/v) Tween-20，pH2.5
中和缓冲液 Neutralization Buffer	1 M Tris-HCl, pH 9.0

1. 细胞裂解液制备

选择合适的裂解液处理细胞样品，按照标准步骤制备细胞裂解液，置于冰上备用，或于-20℃长期保存。

2. 磁珠预处理

1) 将免疫沉淀磁珠用漩涡振荡器振荡 1 min，使磁珠重新悬浮，取 20~30 μL 磁珠悬液放入 1.5 mL EP 管中。
2) 向 EP 中加入 500 μL Washing Buffer 进行洗涤，温和翻转 EP 管数次，使磁珠重新悬浮。将 EP 管放入磁性分离器，静置 1 min，进行磁性分离，吸去上清液，取下 EP 管。重复上述洗涤步骤 2 次。

3. 免疫沉淀步骤

1) 向 EP 管中加入 500 μL 制备好的细胞裂解液，将 EP 管放在旋转混合仪上，在 37℃下旋转混合 30 min。如结合力较弱，可在室温下孵育 1 h，或在 4℃下孵育过夜。
2) 孵育结束后，进行磁性分离，弃去或保存上清以供后续分析。
3) 向 EP 管中加入 500 μL Washing Buffer 进行洗涤。进行磁性分离，吸去上清液，取下 EP 管，重复洗涤磁珠 3 次。

4. 抗原洗脱

提供以下几种抗原洗脱方案，用户可根据后续检测的需要选择不同的洗脱方法。

1) 变性洗脱法：此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。向 EP 管中加入 100 μL SDS-PAGE Loading Buffer（自备），混合均匀，95℃加热 5 min。然后进行磁性分离或者离心（室温，13000 g, 10 min），收集上清液，进行 SDS-PAGE 检测。
2) 中性洗脱法：向 EP 管中加入 50 μL Flag Peptide Elution Buffer，置于旋转混合仪上在 37℃孵育 5-10 min（低于 37℃ 时需适当延长孵育时间）。然后进行磁性分离或者离心，收集上清液。为提高抗原回收率，可重复以上步骤。
3) 酸性洗脱法：向 EP 管中加入 100 μL Acidity Elution Buffer，置于旋转混合仪上在 37℃孵育 5-10 min。然后进行磁性分离或者离心，收集上清液。如需中和酸性洗脱液，可向 100 μL 洗脱液中加入 50 μL Neutralization Buffer，调整 pH 至中性。

注：纳米抗体磁珠没有轻重链污染问题，建议首选变性洗脱法，洗脱效率更高。

保存条件

4℃，1 年。

注意事项

1. 避免冷冻磁珠。磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
2. 为了减少磁珠的损失，每次磁性分离的时间不应少于 1 min。
3. 在从磁珠保存管中取出磁珠之前，应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
4. 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管，以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
5. 操作者可根据实际需求，利用抗体结合反应步骤和抗原结合反应步骤中收集的上清液，检测抗体、抗原与磁珠的结合情况。
6. 在 IP 实验中，不同类型的抗体和抗原结合的亲和力会有所不同。如果使用本说明书推荐的缓冲体系未能获得理想的实验结果，操作者可以自行筛选和配制缓冲液进行实验。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

TargetMol®所有产品和服务仅用于科学研究，不能被用于人体，我们不向个人提供产品和服务。
官方微信公众号 积分商城小程序