



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)

产品编号	产品名称	包装
R32141-0.5ml	Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)	0.5ml
R32141-2ml	Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)	2ml
R32141-10ml	Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)	10ml

产品简介:

源叶生产的 Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶), 也称 Anti-Myc IP Gel、Anti-Myc 免疫沉淀凝胶或 Anti-Myc 琼脂糖凝胶, 由高质量的单克隆鼠源 Myc 抗体与琼脂糖共价偶联而成, 可与常规蛋白表达系统(如哺乳动物细胞、细菌或酵母)中含有 Myc 标签的蛋白结合, 从而用于带有 Myc 标签的融合蛋白或蛋白复合物的免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)或纯化。

Myc 标签(Myc-tag)、Flag 标签(Flag-tag)、HA 标签(HA-tag)、His 标签(His-tag)和 GST 标签(GST-tag)等是表达载体上最常见的一些标签, 通过与这些标签的融合表达可以非常方便地检测目的蛋白及与目的蛋白相互结合的蛋白, 也可以非常方便地用于目的蛋白的纯化。Myc-tag 是 10 个氨基酸残基(EQKLISEEDL)组成的多肽, 通过基因重组技术把 Myc-tag 的核酸序列与目的基因的 5'端或 3'端连接, 就可以最终表达形成 Myc-tag 的目的蛋白。Myc-tag 具有以下优点: Myc-tag 通常不会与目的蛋白相互作用, 并且大多数情况下不会影响目的蛋白的功能; Myc-tag 作为标签蛋白, 后续通过 Myc 抗体、Anti-Myc 磁珠或 Anti-Myc 亲和凝胶即可对目的基因的表达、定位及功能进行检测或对目的蛋白进行纯化、免疫沉淀或免疫共沉淀等。基于以上优点, Myc 标签已被广泛应用于蛋白表达、纯化、鉴定、相互作用和功能等多方面的研究。

Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶), 也被称为 Anti-EQKLISEEDL Affinity Gel/Beads/Resin 或 Anti-EQKLISEEDL IP Gel/Beads/Resin, 可特异性地结合 Myc 标签融合蛋白, 广泛应用于带有 Myc 标签的融合蛋白或蛋白复合物的免疫沉淀或纯化等实验。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

本产品有较高的融合蛋白结合量、特异性强: 每 ml 纯凝胶(settled gel)含有约 8mg Myc 抗体, 可结合约 1mg 融合蛋白, 且特异性强, 非特异的杂蛋白结合少。

本产品可结合多种形式的 Myc 标签蛋白: 本产品可特异性地结合甲硫氨酸修饰的 N 端 Myc 融合蛋白(Met-Myc-Protein)、N 端 Myc 融合蛋白(Myc-Protein)、C 端 Myc 融合蛋白(Protein-Myc)。

本产品可选择多种洗脱方法: 本产品根据蛋白结构的完整性、生物功能及后续应用的要求等, 可使用多种洗脱方法, 包括 Myc 多肽、酸性和 SDS-PAGE 上样缓冲液等洗脱液进行洗脱。特别是 c-Myc 多肽洗脱后不包含抗体的轻链和重链, 可以有效解决免疫沉淀后 Western 实验中轻链和重链的干扰问题。

本产品可重复使用多次, 性价比高: 在正常情况下, 本产品用于相同蛋白的纯化时可回收使用 3-5 次。如果用于免疫共沉淀检测蛋白-蛋白的相互作用, 不推荐重复使用。

本产品的主要指标如下表:

Cat. No.	
Product name	Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)
Product content	50% settled gel in 50% glycerol with 10mM phosphate-buffered saline and preservative (pH7.4)
Matrix	4% agarose
Average bead size	~90 μ m
Antibody	Mouse monoclonal antibody against Myc-tag
Isotype	IgG1
M.W. of antibody	Approximately 150kDa
Antibody concentration	Approximately 8mg Myc antibody per ml settled gel
Binding capacity	Approximately 1mg Myc-tagged protein per ml settled gel
Elution method	Acid, alkaline, neutral, peptide competitive or SDS-PAGE loading buffer elution. Note: If elute with SDS-PAGE loading buffer, the light (~25kDa) and heavy (~50kDa) chain of antibody will be denatured and release from the gel.
Reagent compatibility	Chaotropic reagents will denature the target Myc-tagged protein. Do not exceed 0.3M GuHCl or 1.5M Urea.
Application	Suitable for IP、Co-IP and protein purification.
Storage	-20°C



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

本产品为 50%凝胶悬液，包装体积为总体积，每毫升本产品中共含有 0.5ml 纯凝胶(沉淀物)。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R32141-0.5ml	Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)	0.5ml
R32141-2ml	Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)	2ml
R32141-10ml	Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)	10ml
—	说明书	1 份

保存条件:

-20°C 保存，一年有效。

注意事项:

本产品使用前一定要充分重悬，即充分颠倒若干次使混合均匀。

本产品含有微量的防腐剂，不会影响常规的蛋白或蛋白复合物的纯化和免疫沉淀。但如果后续涉及酶活性测定，使用本产品前宜先用 TBS 等适当溶液洗涤凝胶 3 次，以充分消除防腐剂可能产生的干扰。

在免疫沉淀或纯化时，建议设计阳性和阴性对照组。

蛋白样品收集后宜尽快完成纯化工作，并应始终放置在 4°C 或冰浴，以减缓蛋白降解或变性。为有效抑制蛋白降解，可以在蛋白样品中添加适量的蛋白酶抑制剂混合物。

高浓度的 DTT、巯基乙醇、盐酸胍等对本产品与标签蛋白的结合可能有一定影响，但 Western 及 IP 细胞裂解液、RIPA 裂解液或 NP-40 裂解液等都完全适用。

若离心不能完全除去蛋白样品中的不溶物，可以将样品溶液用 0.45 μ m 的滤膜过滤。

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。

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 样品的制备。

a. 选择合适的裂解液，用于制备细胞或组织的裂解液。根据特定的实验目的，如有必要，也可以使用源叶生产的 RIPA 裂解液用于样品的制备。如果使用自行配制的或其它公司生产的裂解液，需要确保裂解液的 pH 为 6-8。

b. 具体的细胞或组织样品裂解的制备步骤请参考裂解液的使用说明。制备好的裂解液上清宜置于冰上或 4°C 存放，随后即可用于免疫沉淀或免疫共沉淀、标签蛋白的纯化等操作。新鲜制备好的样品，建议尽量当天完成免疫沉淀等后续操作，但如果样品不能当天使用，也可以适当分装后 -80°C 冻存。

2. Anti-Myc Affinity Gel (Anti-Myc 亲和凝胶)的准备。

由于 Anti-Myc Affinity Gel 储存在含 50%甘油的保护液中，所以需要在加入样品前适当洗涤。

a. 轻轻重悬 Anti-Myc Affinity Gel，尽量形成均匀的凝胶悬液，按照通常每 100μl 细胞裂解液中加入 20μl 混合均匀的凝胶悬液(以下免疫沉淀法中都以 20μl 凝胶悬液为例)，取适量 Anti-Myc Affinity Gel 至一洁净离心管中，加入 1X TBS 至最终体积为约 0.5ml。注：使用大孔径吸头(如用剪刀剪去部分吸头)吸取凝胶悬液会比较方便。

b. 轻轻重悬 Anti-Myc Affinity Gel，6000×g 在 4°C 离心 30 秒，小心去除上清，不要吸到凝胶。重复上述步骤两次。

c. 按照初始体积的量，用 1X TBS 重悬 Anti-Myc Affinity Gel。

3. 免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)。

1) 加入凝胶与孵育。按照每 100μl 蛋白样品加入 20μl 凝胶悬液的比例加入 Anti-Myc Affinity Gel，置于侧摆摇床或旋转混合仪上，4°C 孵育 1-2 小时。如需提高结合效率，可 4°C 孵育过夜。

2) 离心分离。孵育完毕后，6000×g 在 4°C 离心 30 秒，小心去除上清，不要吸到凝胶。注：可保留部分上清液，用于检测免疫沉淀的效果。

3) 洗涤。加入 500μl 的 1X TBS，轻轻重悬 Anti-Myc Affinity Gel，冰浴并置于摇床上 5 分钟，然后 6000×g 在 4°C 离心 30 秒，小心去除上清，不要吸到凝胶。重复洗涤三次。样品置于冰上用于洗脱。

4. 洗脱：



根据标签蛋白的特点及后续实验要求，可以选择如下 3 种方法之一进行洗脱。

1) c-Myc 竞争洗脱法：本方法为非变性法，洗脱效率高，且洗脱后的蛋白保持原有的生物活性，便于后续分析检测。

a. c-Myc 多肽洗脱液的配制：取适量 c-Myc 多肽溶解于 1X TBS 中，使其终浓度为 150 μ g/ml 或稀释 5mg/ml 的 Myc 多肽溶液至 150 μ g/ml。

b. 每 20 μ l 原始凝胶悬液体积，加入 100 μ l c-Myc 多肽洗脱液 (150 μ g/ml)，混匀后置于侧摆摇床或旋转混合仪上，室温摇晃孵育 30-60 分钟，或 4 $^{\circ}$ C 孵育 1-2 小时。为了提高洗脱效率，可延长孵育时间或重复洗脱。c-Myc 多肽洗脱液体积一般为凝胶悬液的 5 倍。

c. 孵育完毕后，6000 \times g 在 4 $^{\circ}$ C 离心 30 秒，将上清转移到新的离心管中。上清即为洗脱的 Myc 标签蛋白。

d. 洗脱的 Myc 标签蛋白置于 4 $^{\circ}$ C 待用，或者 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C 长期保存。

2) 酸性洗脱法：本方法为非变性法，比较快速且高效。洗脱后的蛋白保持原有的生物活性，便于后续分析检测。

a. 溶液的配制：酸性洗脱液 (0.1M Glycine-HCl, pH3.0)，中和液 (0.5M Tris-HCl, pH7.4, 1.5M NaCl)。

b. 每 20 μ l 原始凝胶悬液体积，加入 100 μ l 酸性洗脱液，混匀后置于侧摆摇床或旋转混合仪上，室温孵育 5 分钟。酸性洗脱液体积一般为凝胶悬液的 5 倍。注：孵育时间不宜超过 15 分钟。

c. 孵育完毕后，6000 \times g 在 4 $^{\circ}$ C 离心 30 秒，将上清转移到新的离心管中，并立刻加入 10 μ l 中和液，适当混匀。

d. 为了获得最大的洗脱效率，可重复步骤 b 和 c，并将相同样品合并。

e. 洗脱并中和的 Myc 标签蛋白置于 4 $^{\circ}$ C 待用，或者 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C 长期保存。

注 1：酸性洗脱法虽然高效，但仍可能低于竞争洗脱法或 SDS-PAGE 上样缓冲液洗脱法。

注 2: 由于目的蛋白的差异可能对酸性洗脱法的洗脱效率有一定的影响, 如果对洗脱效率的要求比较高, 可对酸性洗脱液的 pH 在 2.5-3.1 之间进行一定的调整, 相应的中和液的 pH 值或量也要进行一定的调整, 例如 100 μ l 酸性洗脱液(0.1M Glycine-HCl, pH2.8)和 15 μ l 中和液(1M Tris-HCl, pH8.5)。

3) SDS-PAGE 上样缓冲液洗脱法: 本方法为变性法, 得到的蛋白样品适合 SDS-PAGE 电泳或 WB 检测。

a. SDS-PAGE 上样缓冲液的配制: 可以直接使用碧云天生产的 P0015B SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(2X), 但含有 DTT 等还原剂, 用该上样缓冲液洗脱得到的样品中含有 Myc 抗体的轻链和重链。也可以自行参考《分子克隆》等配制不含 DTT 的 2X SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液。

b. 每 20 μ l 原始凝胶悬液体积, 加入 20 μ l 2X SDS-PAGE 上样缓冲液, 95 $^{\circ}$ C 加热 5 分钟。

c. 6000 \times g 在 4 $^{\circ}$ C 或室温离心 30 秒, 取上清进行 SDS-PAGE 电泳或 WB 检测。

注: 由于上样缓冲液中 SDS 会破坏 Myc 抗体, 所以洗脱后的凝胶不能重复使用。