



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 亲和凝胶

货号: R32142

规格: 0.5ml, 1ml

保存温度: 2-8°C, 有效期 12 个月。

产品信息:

Myc 标签亲和凝胶, 由高品质的 Myc 小鼠单抗与琼脂糖凝胶共价偶联制成, 具有高载量 (至少为 1.2mg protein/ml 凝胶悬液), 高特异性, 性质稳定, 可反复使用的特点, 可用于 Myc 标签融合蛋白的亲和纯化及免疫 (共) 沉淀。

性能指标:

应用范围	可用于 Met 修饰的 N 端 Myc 融合蛋白 (Met-Myc-Protein), N 端 Myc 融合蛋白 (Myc-Protein) 和 C 端 Myc 融合蛋白 (Protein-Myc) 的亲和纯化及免疫 (共) 沉淀。
抗体属性	Anti-MYC 单克隆抗体。
载量	1ml 琼脂糖颗粒, 共价偶联 6mg Anti-Myc 小鼠单克隆抗体, 可纯化或沉淀至少 1.2mg Myc 融合蛋白。
强度	可反复使用 5 次以上。
成分	1ml 共价偶联 Anti-Myc 单克隆抗体的琼脂糖颗粒, 溶于 2ml PBS 中。

使用说明 (仅供参考):

使用目的	使用要求	使用方法
IP/CoIP		见 应用一. 免疫 (共) 沉淀法检测 Myc 标签蛋白质
亲和纯化	1. 目标蛋白遇酸不稳定 2. 要求纯化柱反复使用 3. 接受高成本纯化	见 应用二. Myc 多肽亲和纯化 Myc 标签蛋白质
亲和纯化	1. 目标蛋白比较稳定 2. 不要求纯化柱反复使用 3. 不接受高成本纯化	见 应用三. 酸洗脱亲和纯化 Myc 标签蛋白质
细胞裂解液选择		



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

Myc 标签蛋白质在细胞内表达	见 细胞裂解液制备 也可使用其它细胞裂解液来裂解细胞
Myc 标签蛋白质在细胞外分泌表达	表达量高可以直接纯化, 表达量低请浓缩后纯化

需自备试剂及设备

离心机, 1.5mL 离心管若干, 重力纯化柱 (大量纯化需要)

细胞裂解液, 酸性洗脱液, 中和液, PBS, 2x 蛋白上样缓冲液, Myc 多肽
待测抗原样品及检测抗体

使用实例:

应用一. 免疫 (共) 沉淀法检测 Myc 标签蛋白质

1) 重悬 Anti-MYC 亲和凝胶至均一, 转移 20 μ L 混合液(约含 10 μ L 凝胶)至离心管中, 加入 10 倍凝胶 体积 (约 100 μ L) PBS, 5000rpm x 30sec, 弃上清, 重复该步骤清洗凝胶三次。

2) 加入 50-200 μ L 含有目标蛋白的真核细胞裂解液, 室温摇床孵育 2hr 或者 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。

3) 离心分离凝胶, 将上清液转移到新的 EP 管中备用 (上清液可用于检测 MYC-tag 蛋白是否存在残留)。

4) 清洗凝胶, 加入 10 倍凝胶 PBS, 用上述离心法清洗凝胶三次; 预冷的 5 倍凝胶体积 pH 5.0 酸性预洗液洗涤凝胶, 除去非特异性结合蛋白。离心弃上清。

5) 加入 2x 上样缓冲液, 煮沸 5min, 冷却至室温并离心。取上清进行 SDS-PAGE 或 Western Blotting 检测。

应用二. Myc 多肽亲和纯化 Myc 标签蛋白质

1) 重悬 Anti-MYC 标签亲和凝胶至均一, 转移 40 μ L 混合液(约含 20 μ L 凝胶)至离心管中, 加入 10 倍凝胶体积 (约 200 μ L) 1x PBS, 5000rpm x30sec, 弃上清, 重复该步骤清洗凝胶三次。

2) 加入 50-200 μ L 含有目标蛋白的真核细胞裂解液, 室温摇床孵育 2hr 或者 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。



3) 离心分离凝胶, 将上清液转移到新的 EP 管中备用 (上清液可用于检测 MYC-tag 蛋白是否存在残留)。

4) 加入 10 倍凝胶 1xPBS, 用上述离心法清洗凝胶三次; 预冷的 5 倍凝胶体积 pH 5.0 酸性预洗液洗涤凝胶, 除去非特异性结合蛋白。离心, 弃上清。

5) 将 2 倍凝胶体积, 浓度为 1mg /mL MYC 多肽溶液分几次加入上述沉淀, 4℃摇床孵育 2 h 后 (为了提高洗脱效率, 可延长孵育时间或重复洗脱), 离心收集上清。如有必要, 重复本步骤 1-3 次。将几次分离的上清分管收集。合并洗脱液。

备注: 根据蛋白质洗脱难易程度, 调整 MYC 多肽溶液, 最高可到 2mg/ml。

6) 亲和凝胶如需重复使用, 需依次用 10 倍凝胶体积的酸性洗脱液、10 倍凝胶体积的中和液、10 倍凝胶体积的 PBS 清洗, 再用适量 1xPBS (含 50%甘油, 0.2%叠氮钠) 清洗, 再加入适量该保存溶液至填料中, 保存在-20℃。

注意: 酸性环境会缩短凝胶的使用寿命, 应尽量缩短凝胶与酸性洗脱液的接触时间, 不超过 10min。

7) 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。
应用三. 酸洗脱亲和纯化 Myc 标签蛋白质

1) 重悬 Anti-MYC 标签亲和凝胶至均一, 转移 40μL 混合液(约含 20μL 凝胶)至离心管中, 加入 10 倍凝胶体积 (约 200μL) PBS, 5000rpm x 30sec, 弃上清, 重复该步骤清洗凝胶三次。

2) 加入 50-200μL 含有目标蛋白的真核细胞裂解液, 室温摇床孵育 2hr 或者 4℃孵育过夜。

3) 加入 10 倍凝胶 PBS, 用上述离心法清洗凝胶三次; 预冷的 5 倍凝胶体积 pH 5.0 酸性预洗液洗涤凝胶, 除去非特异性结合蛋白。离心, 弃上清。

4) 预冷的 10 倍凝胶体积 pH 3.0 的酸性洗脱液进行洗脱, 收集管中预先放入中和液 10μl。注意: 酸性环境会缩短凝胶的使用寿命, 应尽量缩短凝胶与酸性洗脱液的接触时间, 不超过 10min。

5) 用紫外检测仪测定收集峰, 合并收集峰。



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

6) 亲和凝胶如需重复使用, 需依次用 10 倍凝胶体积的酸性洗脱液、10 倍凝胶体积的中和液、10 倍凝胶体积的 1xPBS 清洗, 再用适量 1xPBS (含 50%甘油, 0.2%叠氮钠) 清洗, 再加入适量该保存溶液至填料中, 保存在-20℃

7) 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。

细胞裂解液制备

1) 悬浮细胞和半贴壁细胞从细胞培养瓶上吹下来后放入离心管中, 1000rpm 离心 5 分钟。贴壁细胞用细胞刮子轻轻从瓶壁上刮下来, 放入离心管中 1000rpm 离心 5 分钟。

2) 预冷的 1x PBS 重悬细胞, 1000rpm 离心 3min, 弃上清。重复一次。

3) 根据细胞的量加入相应体积的细胞裂解液, (例如: T75 细胞瓶底部细胞汇合度大于 90%, 一般约 $0.5-1 \times 10^7$ 细胞, 需要加入 1ml 细胞裂解液)。反复吹打后冰上放置 10-20min, 让细胞充分裂解。

4) 用超声破碎仪将细胞裂解液超声, 直至细胞裂解液透明, 不再粘稠。冰上放置 30min 之后, 12000rpm, 4℃离心 10min。取上清, -80℃冷冻保存。

注意事项:

(1) 本产品含 50%甘油和 0.2%叠氮钠的 PBS 保存液中, 需冷藏条件下运输。

(2) 勿干燥凝胶, 勿使用超声处理凝胶, 勿使酸处理凝胶时间超过 10min。

(3) 以上使用方法中的凝胶用量, 均为少量制备的示范用量, 具体用量请根据实际情况调整。

(4) 本品仅用于科学研究, 不可用于诊断及治疗。