

Flag&HA Co-IP阳性对照质粒对

产品编号	产品名称	包装
D3043S	Flag&HA Co-IP阳性对照质粒对	各1 μ g
D3043M	Flag&HA Co-IP阳性对照质粒对	各100 μ g

产品简介:

- 碧云天自行研发生产的Flag&HA Co-IP阳性对照质粒对(Positive Control Plasmids Pair for Flag&HA Co-IP)包含pCMV-3X Flag-LTA和pCMV-HA-p53两种质粒,可以用于在哺乳动物细胞中表达N端带有3X Flag标签的人源LTA和HA标签的p53融合蛋白。因为p53和LTA蛋白间具有较强的相互作用,本质粒对可作为共转染细胞免疫共沉淀(Co-Immunoprecipitation, Co-IP)的阳性对照使用,也可以单独转染细胞作为免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)的阳性对照使用。
- 免疫沉淀或免疫共沉淀是研究蛋白或蛋白与蛋白相互作用(Protein-Protein Interactions, PPIs)的常用实验技术,通过使用特异性抗体和可结合抗体的介质(如Protein A/G Agarose或Protein A/G磁珠),或直接使用偶联特异性抗体的介质(如琼脂糖凝胶或磁珠),然后通过离心或磁力从溶液中分离出抗原和抗体复合物,从而将目标蛋白质从复杂样品中分离出来,随后可以用于Western印迹检测或质谱分析等[1-2]。
- pCMV-3X Flag-LTA质粒表达LTA。LTA即SV40大T抗原(SV40 large T antigen),也称SV40gp6 large T antigen (*Macaca mulatta polyomavirus 1*),全长708氨基酸,分子量为81.6kDa,是一种六聚体蛋白。当LTA单独表达时能诱导静止细胞的增殖和转化,可以诱导实验动物肿瘤的形成,为研究DNA复制和细胞转化提供了非常有用的模型[3]。
- pCMV-HA-p53质粒表达p53。p53中文名为细胞肿瘤抗原p53 (Cellular tumor antigen p53),全长393氨基酸,理论分子量为43.7kDa,实际分子量约为53kDa,是调控细胞周期的重要转录因子,主要功能包括调节细胞周期、促进细胞凋亡、维持基因组稳定性和抑制肿瘤血管生成等,野生型的p53是一个重要的抑癌基因[4]。
- 本质粒对均含有CMV启动子,可以高效启动目的蛋白在细胞中的表达,均带有氨苄青霉素(Ampicillin)抗性和新霉素(Neomycin)抗性。
- 本质粒对用于磁珠法免疫共沉淀的效果参考图1A,用于琼脂糖凝胶法免疫共沉淀的效果参考图1B。

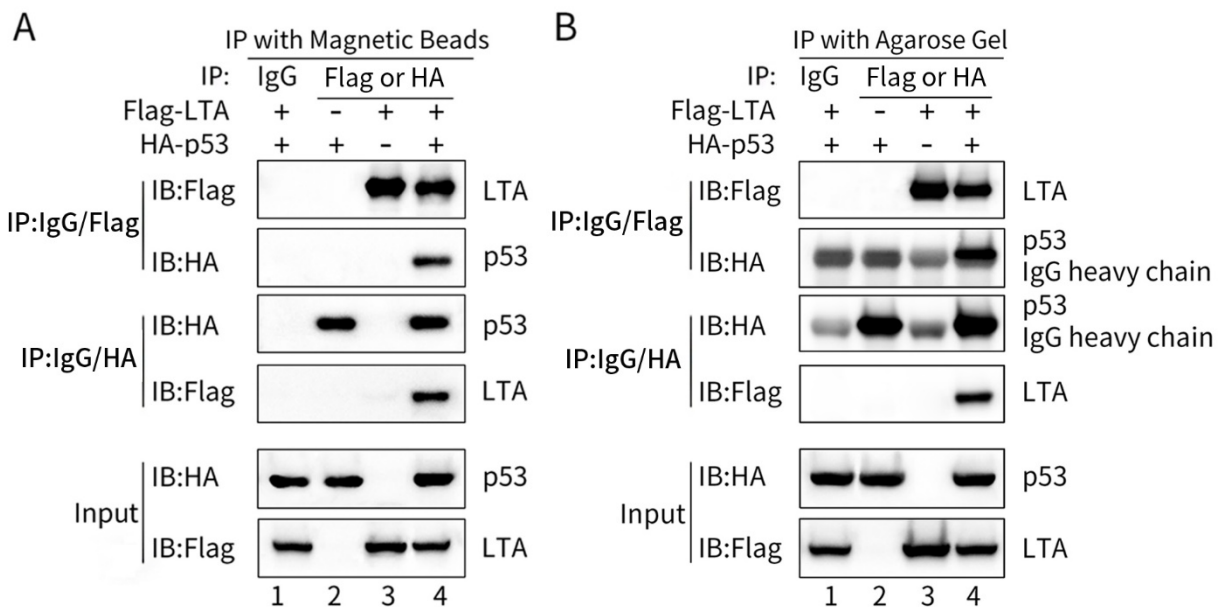


图1. 碧云天的Flag&HA Co-IP阳性对照质粒对(D3043)用于免疫共沉淀的效果图。图A使用了Flag标签蛋白免疫沉淀试剂盒(磁珠法) (P2181)和HA标签蛋白免疫沉淀试剂盒(磁珠法) (P2185), 图B使用了Flag标签蛋白免疫沉淀试剂盒(琼脂糖凝胶法) (P2202)和HA标签蛋白免疫沉淀试剂盒(琼脂糖凝胶法) (P2206)。293T细胞(人胚肾细胞)单独或共转染pCMV-3X Flag-LTA和pCMV-HA-p53质粒36小时后,使用Western及IP细胞裂解液(P0013)裂解。泳道1为小鼠IgG磁珠或琼脂糖凝胶免疫沉淀后洗脱的样品,为免疫共沉淀的阴性对照;泳道2、3和4为磁珠或琼脂糖凝胶免疫沉淀后洗脱的样品,其中图A是经3X Flag Peptide或HA Peptide洗脱后的样品,图B是经SDS-PAGE Sample Loading Buffer洗脱后的样品,从泳道4可观察到共转染的Flag-LTA与HA-p53可以相互作用。Input即全细胞裂解液(Total cell lysate)。Western印迹成像由BeyoImager™ 600化学发光成像系统完成(EI600)。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异,图中数据仅供参考。

- 推荐的测序引物序列如下：
CMV-F primer: 5'-CGCAAATGGGCGGTAGGCGTG-3'
BGH-R primer: 5'-TAGAAGGCACAGTCGAGG-3'
- pCMV-3X Flag-LTA和pCMV-HA-p53的全序列信息请参考碧云天网站上该质粒的信息。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D3043S-1	pCMV-3X Flag-LTA	1μg
D3043S-2	pCMV-HA-p53	1μg
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D3043M-1	pCMV-3X Flag-LTA	100μg
D3043M-2	pCMV-HA-p53	100μg
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存。

注意事项：

- 本质粒未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途，也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。
- 本质粒对仅经过测序、免疫沉淀和免疫共沉淀验证，未经过功能性验证。
- 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：

- 首次使用1μg包装的本产品时，请先取少量本质粒转化大肠杆菌，进行质粒小量、中量或大量抽提后再用于后续用途。抽提获得的质粒可以通过酶切电泳进行鉴定，或通过测序进行鉴定。
- 100μg包装的本产品质粒浓度为0.25μg/μl，共400μl。可以直接用于转染细胞。

参考文献：

1. Lee C. Methods Mol Biol. 2007. 362:401-406.
2. Gevaert K, Vandekerckhove J. Electrophoresis. 2000. 21:1145-1154.
3. Xiao CY, Jans P, Jans DA. FEBS Lett. 1998. 440(3):297-301.
4. Levine AJ. Cell. 1997. 88(3):323-331.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2115	BeyoMag™ Anti-Flag Magnetic Beads (Anti-Flag磁珠)	0.5/2ml
P2121	BeyoMag™ Anti-HA Magnetic Beads (Anti-HA磁珠)	0.5/2ml
P2171	BeyoMag™ Mouse IgG Magnetic Beads (小鼠IgG磁珠)	1/5ml
P2181	Flag标签蛋白免疫沉淀试剂盒(磁珠法)	20-100/100-500次
P2185	HA标签蛋白免疫沉淀试剂盒(磁珠法)	20-100/100-500次
P2202	Flag标签蛋白免疫沉淀试剂盒(琼脂糖凝胶法)	20/100次
P2206	HA标签蛋白免疫沉淀试剂盒(琼脂糖凝胶法)	20/100次
P2265	Mouse IgG Agarose (小鼠IgG琼脂糖凝胶)	1/5ml
P2271	Anti-Flag Affinity Gel (Anti-Flag亲和凝胶)	0.5/2/10ml
P2282	Anti-Flag Affinity Gel (Anti-Flag亲和凝胶)	0.5/2/10ml
P2287	Anti-HA Affinity Gel (Anti-HA亲和凝胶)	0.5/2/10ml
AF0036	FLAG Tag Rabbit Polyclonal Antibody	100μl
AF5051	Flag Tag Mouse Monoclonal Antibody	50μl
AF519	Flag抗体(小鼠单抗)	>40次
AF2305	HA Tag Rabbit Monoclonal Antibody	50μl
AF0039	HA Tag Rabbit Polyclonal Antibody	100μl
AF5057	HA Tag Mouse Monoclonal Antibody	50μl
AH158	HA抗体(小鼠单抗)	>30次

D3031	pCMV-3X Flag-p53	1/100μg
D3032	pCMV-3X Flag-LTA	1/100μg
D3033	pCMV-HA-p53	1/100μg
D3036	pCMV-Myc-LTA	1/100μg
D3041	Flag&Myc Co-IP阳性对照质粒对	各1/100μg
D3043	Flag&HA Co-IP阳性对照质粒对	各1/100μg
D3045	HA&Myc Co-IP阳性对照质粒对	各1/100μg

Version 2022.05.02