

## 抗 DYKDDDDK タグ抗体（ウサギ・M2）

作成日 2025 年 11 月 7 日

|          |                        |
|----------|------------------------|
| 製品コード    | FLR-01-0-200           |
| クローナリティー | モノクローナル（リコンビナント）       |
| 可変領域配列   | マウス（クローン：M2）           |
| 定常領域配列   | ウサギ IgG                |
| 発現系      | CHO-Spica（無血清培地）       |
| 標識       | なし                     |
| アプリケーション | ウェスタンブロット（1：5000）      |
| 性状       | 液体                     |
| 内容量      | 200 µg（1.0 mg/mL）      |
| 精製方法     | Protein A              |
| 保存バッファー  | PBS（pH 7.4）：グリセロール＝1：1 |
| 保存条件     | −20℃で保管                |

### 【適用アプリケーション】

- ・ ウェスタンブロット：1/5000

※研究用。ヒト及び動物の診断・治療、その他の特殊な条件下では、使用しないで下さい。

### 【使用方法】

以下の手順はあくまでも例になります。最良の結果を得るためには、各使用者で適切な希釈倍率を決定することを推奨します。

### ウェスタンブロット

1. トランスフェクションを行った細胞を  $1 \times 10^6$ 細胞分回収し、PBS で洗浄する。
2. 回収した細胞に RIPA バッファーを 1 mL 加え、細胞溶解液とする。
3. 細胞溶解液 10 µL をアセトン沈殿法で沈殿させ、レムリーサンプルバッファー（×4）を 5 µL 加えて溶解する。

4. 3. の溶液に、ジチオトレイトール溶液（終濃度 100 mM）と超純水を加え合計 20  $\mu$ L にして、70℃で 10 分間加熱する。  
※取得データ例ではトランスフェクションを行っていない CHO 細胞で調製した細胞溶解液に C-term. DYKDDDDK-tagged Protein をそれぞれ 10 ng、5 ng、2.5 ng を添加、および未添加（代わりに超純水を添加）で行った。
5. SDS-PAGE を行う。手順・条件は使用する機器や条件に適した条件で行う。
6. タンパク質をゲルからポリフッ化ビニリデン（PVDF）メンブレンに移す。手順・条件は使用する機器や条件に適した条件で行う。
7. 2%ブロッキング剤（ECL™ Prime Blocking Reagent, Cytiva, RPN418）in TBS-T（以下ブロッキングバッファーと記載）にメンブレンを浸し、室温で 30 分間振盪する。
8. ブロッキングバッファーで本製品を 1/5000 に希釈した溶液にメンブレンを浸し、室温で 60 分間振盪する。
9. TBS-T でメンブレンを 3 回洗浄（5 分間→10 分間→10 分間）する。
10. ブロッキングバッファーで二次抗体（抗ウサギ IgG(ヤギ), HRP 標識, 交差吸収済, ナカライテスク, 21860-74）を 1/1000 に希釈した溶液にメンブレンを浸し、室温で 60 分間振盪する。
11. TBS-T でメンブレンを 3 回洗浄（5 分間→10 分間→10 分間）する。
12. 発光検出試薬（ECL™ Prime Western Blotting Detection Reagent, Cytiva, RPN2232）をメンブレンにかける。
13. 化学発光撮影装置で撮影する。

<取得データ例>

C-term. DYKDDDDK-tagged Protein

