

#M20016

## Anti-GFP Tag mAb Magnetic Beads

(避重轻链特制款)

- 500ul
- 1 mL



<b>Order</b>	021-34695924 orders@ab-mart.com
<b>Support</b>	400-6123-828 support1@ab-mart.com
<b>Web</b>	www.abmart.cn

## 产品描述

绿色荧光蛋白广泛应用于蛋白定位和蛋白动力学分析。GFP Magnetic Beads 是 GFP-tag antibody 与磁珠偶联，专门用于纯化和检测细胞裂解液或菌体裂解液中的 GFP 标签蛋白。适用于 IP 实验。当细胞或菌体裂解液与本试剂混合，样本中的 GFP 标签重组蛋白与 GFP Magnetic Beads 特异性结合，其他杂蛋白不结合。本试剂结构稳定，结合 GFP 标签蛋白效率高。IP 产物可以应用于质谱分析、酶活性测定等生化分析手段中。

本产品是特别制备的 GFP beads 产品，使用该产品进行 IP 实验，在后续的 IP-WB 步骤中，可以完全避免抗体轻重链的条带出现。

## 产品储存

储存于 4° C，禁止冻存。保质期 12 个月。

## 使用指南

### 1. 收集细胞:

对于一个免疫共沉淀反应，推荐使用  $10^6$ - $10^7$  个表达 GFP 融合蛋白的哺乳动物细胞。服出培养液，加 1ml 预冷 PBS 于细胞中并刮下细胞，之后将细胞转入预冷管中。4°C，500g 离心 3 分钟，弃上清液。用预冷 PBS 洗两遍细胞沉淀物，轻轻重悬细胞。

### 2. 裂解细胞:

(1) 用 200μl 预冷的 Lysis buffer 重悬细胞。

**注：在 Lysis buffer 中加入蛋白酶抑制剂（推荐使用 cocktail 类型的蛋白酶抑制剂，货号 A10004：200X 蛋白酶抑制剂复合物）**

(2) 将离心管放在冰上 30 分钟，每 10 分钟重悬一次细胞。

(3) 16000g，4°C 离心 10 分钟，将上清转移到一个新的预冷离心管中，加 300μl dilution Buffer, 丢掉沉淀。

**注：在这步细胞溶解物可放入-80°C 长期保存。同样需要在在 dilution buffer 中加入蛋白酶抑制剂。**

**3. 平衡磁珠:** 涡旋 GFP Magnetic Beads，吸取 70μl（35ul 纯磁珠）放在 1.5ml 离心管中。加入 1ml 预冷 PBST，手拿上下晃动 60 秒，不要太剧烈。放入磁力架静置分离磁珠 60 秒，直到上清液澄清，丢掉上清液，重复 3 次。

#### 4. 结合蛋白:

- (1) 在平衡好的磁珠中加入细胞裂解液 500ul。
- (2) 在 4℃用翻转摇床旋转 1 小时。

#### 5. 洗涤:

- (1) 用磁力架静置分离磁珠，直到上清液澄清，丢弃上清液。(如有需要，可取 50μl 上清液作为 input 对照用于免疫印迹分析)
- (2) 再加 1ml 预冷 PBST 悬浮磁珠。
- (3) 磁力架静置分离磁珠，丢弃上清液，重复此步骤至少 4 次。

#### 6. 洗脱结合蛋白:

- (1) 除去上清液之后，用 40μl SDS loading buffer 重悬磁珠。
- (2) 将磁珠在 95℃中加热 10 分钟，使免疫复合物分离出来。用磁力架静置分离磁珠，取上清跑 SDS-PAGE。
- (3) 如果后续 IP 产物需要进行质谱鉴定，可以使用以下方法来替代步骤 (1) 和 (2): 加 50 μl 0.2M, PH2.5 的甘氨酸-盐酸重悬磁珠，保持混匀状态孵育 30s, 用磁力架静置分离磁珠。将上清转移至新的离心管中，加入 5μl 1M PH10.4 的 Tris base 中和，可重复此步骤来增加洗脱效率。

#### 其他推荐产品

#M20001 His-Tag (2A8) Mouse mAb

#M20002 Myc-Tag (19C2) Mouse mAb

#M20003 HA-Tag (26D11) Mouse mAb

#M20004 GFP-Tag (7G9) Mouse mAb

#M20007 GST-Tag (12G8) Mouse mAb

#M20008 DYDDDDDK-Tag (3B9) Mouse mAb (Binds to same epitope as Sigma's Anti-FLAG M2 Antibody)

#M20012 Anti-Myc-Tag Mouse mAb (Agarose Conjugated)

#M20013 Anti-HA-Tag Mouse mAb (Agarose Conjugated)

#M20018 Anti-DYKDDDDK-Tag Mouse Antibody (Agarose Conjugated) (Same as Sigma's Anti-FLAG M2)

#M20118 Anti-DYKDDDDK-Tag Mouse Antibody (Magnetic Beads) (Same as Sigma's Anti-FLAG M2)