

#M20015

Anti-GFP Tag mAb Agarose conjugated

(避重轻链特制款)

- 500ul
- 1 mL



Order 021-34695924
orders@ab-mart.com

Support 400-6123-828
support1@ab-mart.com

Web 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-beads 是 GFP-tag antibody 与琼脂糖凝胶微球 (Agarose) 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 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。

产品结合能力

10ul 磁珠可以结合 3-4ug GFP 的融合蛋白。

推荐使用裂解液

| | |
|-----------------------|--|
| Lysis buffer (CoIP) | 10mM Tris-HCl pH 7.5;150mM NaCl;0.5mM EDTA;0.5% NP-40 |
| RIPA buffer | 10mM Tris-HCl pH 7.5;150mM NaCl;0.5mM EDTA;0.1% SDS; 1% Triton X-100;1% Deoxycholate |
| Dilution/Wash buffer | 10mM Tris-HCl pH 7.5;150mM NaCl;0.5mM EDTA |
| 2×SDS loading buffer | 120mM Tris-HCl pH 6.8; 20% glycerol; 4% SDS, 0.04% bromophenol blue; 10%β-mercaptoethanol |

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。取出培养液, 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 200ul 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 beads: 涡旋 anti-GFP Agarose, 吸取 25μl anti-GFP Agarose 至预冷 500μl dilution buffer 中, 1200g, 4°C 离心 2 分钟, 去掉上清, 重复两次。

4. 结合蛋白:

(1) 将第 3 步获得的细胞蛋白提取液加入平衡后的 anti-GFP Agarose 中 (建议取 50μl 上清液作为 input 对照用于免疫印迹分析), 在 4°C 环境中上下颠倒孵育 1 小时。

(2) 1200g, 4°C 离心 2 分钟, 去掉上清。

5. 洗 anti-GFP Agarose: 重悬 GFP beads 于 500μl 预冷的溶解液中, 1200g, 4°C 离心 2 分钟, 去掉上清, 重复 2-3 次。

可选做: 在第二次清洗中将盐浓度提高到 500mM。

6. 洗脱结合蛋白:

(1) 100μl SDS loading buffer 重悬 anti-GFP Agarose。

(2) 将 anti-GFP Agarose 在 95°C 中加热 10 分钟, 使免疫复合物分离出来。1200g, 4°C 离心 2 分钟, 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 anti-GFP Agarose, 保持混匀状态孵育 30s, 1200g, 4°C 离心 2 分钟。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)