

M20015

Anti-GFP Tag mAb Agarose conjugated (避重轻链特制款)



□ 1000μl;500μl

Order	021-34695924 orders@ab-mart.com
Support	400-6123-828 support1@ab-mart.com
Web	www.ab-mart.com.cn

Description:

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。

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℃, 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 200 μl 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℃ 离心 10 分钟, 将上清转移到一个新的预冷离心管中, 加 300 μl dilution Buffer, 丢掉沉淀。

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

3. 平衡 beads: 涡旋 anti-GFP Agarose, 吸取 25 μl anti-GFP Agarose 至预冷 500 μl dilution buffer 中, 1200g, 4℃ 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 (如有需要, 可取

50 μ l 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 500 μ l 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) 100 μ l 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 μ l 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 5 μ l 1M PH10.4 的 Tris base 中和，可重复此步骤来增加洗脱效率。

Storage Condition:

储存于 4°C，禁止冻存。保质期 12 个月。

RRID : AB_2936244

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)