

## Anti-GFP-Sc 免疫磁珠

Cat#: MIP0057S

(本品仅用于科学研究, 不可用于诊断及治疗)

### 一. 背景信息

GFP, 绿色荧光蛋白(Green fluorescent protein), 来源于维多利亚多管发光水母, 由约 238 个氨基酸组成, 从蓝光到紫外线都能使其激发出绿色荧光。Anti-GFP-Sc 免疫磁珠, 由高品质的 GFP 纳米抗体与磁珠共价偶联制成。由于纳米抗体仅含有抗体分子的可变区, 做免疫(共)沉淀时, 不会有抗体的重链带和轻链带的信号干扰。该产品同时还具有高载量, 高特异性, 操作迅速便捷, 性质稳定, 可反复使用的特点, 可用于 GFP 标签融合蛋白的亲纯化及免疫(共)沉淀。

### 二. 性能指标

- 应用范围:** 可用于N端GFP融合蛋白(GFP-Protein)和C端GFP融合蛋白(Protein-GFP)的免疫(共)沉淀。
- 抗体属性:** Anti-GFP 纳米抗体。
- 磁珠属性:** 琼脂糖包裹的超顺磁珠, 平均粒径 50um。
- 载量:** 1mL 磁珠, 共价偶联 2mg Anti-GFP 纳米抗体。
- 强度:** 可反复使用 5 次以上。
- 成分:** 1ml PBS 中含有 0.5ml 共价偶联 Anti-GFP 纳米抗体的免疫磁珠。。
- 保存方法:** 本产品含有 50%甘油、0.2%叠氮钠的 PBS 保存液中, 4°C可保存 1 年。

### 三. 用前必读

#### 1. 以下试剂及设备, 需要客户自备, 试剂推荐配方见说明书附件 1, 推荐蛋白质制备方案见附件 2。

磁力架 1 个, 1.5mL 离心管若干  
细胞裂解液, PBS, PBST, 2x 蛋白上样缓冲液  
待测抗原样品及检测抗体

#### 2. 注意事项 (开箱前必读)

- 1) 本产品在含有 0.2%叠氮钠的 PBS 保存液中, 4°C可保存 1 年, 冷藏条件下运输。
- 2) 勿离心、干燥磁珠, 勿使用超声处理磁珠。
- 3) 混匀磁珠时, 请采用移液枪轻柔吹打, 柔和涡旋, 上下颠倒及摇床混匀等方法。勿使用超声等方法。
- 4) 以下使用方法中的磁珠用量, 均为少量制备的示范用量, 具体用量请根据实际情况调整。

### 四. 使用方法

#### 免疫(共)沉淀法检测 GFP 标签蛋白质

1. 重悬 Anti-GFP 免疫磁珠至均一, 取 20 $\mu$ L 磁珠悬液(约含 10 $\mu$ L 磁珠)至 1.5mLEP 管中, 加入 500  $\mu$ L 1xPBS, 轻柔重悬清洗磁珠, 磁力架上静置 10 sec 后, 弃上清, 重复上述步骤两次。
1. 注意: 多个样品时, 可将磁珠重悬后分装到数个反应管中分别进行反应。
2. 加入 50-200 $\mu$ L 含有目标蛋白的真核细胞裂解液, 轻柔重悬磁珠, 室温摇床孵育 2hr 或者 4°C孵育过夜。

3. 磁力架上静置 10 sec 后, 将上清液转移到新的 EP 管中备用 (上清液可用于检测 GFP-tag 蛋白是否存在残留)。
4. 清洗磁珠, 加入 500 $\mu$ L 1xPBST, 温和混匀, 清洗磁珠, 磁性分离, 弃上清。重复两次。
5. 加入 2x 上样缓冲液, 煮样 5min, 冷却至室温并离心。取上清进行 SDS-PAGE 或 Western Blotting 检测。

### 附件 1. 推荐缓冲液配方

以下配方仅为本公司推荐, 客户应根据具体情况进行调整。

细胞裂解液:	150mM NaCl, 50 mM Tris-HCL(PH8.0), 1% Triton X-100, 5 mM EDTA (如有必要, 可加入其它蛋白酶抑制剂, 使用说明见附件 2)
中和液:	1M Tris HCl 缓冲液, pH8.0
10xPBS (pH7.5) :	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O 35.8g, NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O 2.8g, NaCl 89g 溶于 1L dd H <sub>2</sub> O, 加入 2‰ Azide (使用时须用双蒸水稀释 10 倍)
1xPBST	1xPBS, 0.1% Tween-20, pH7.5
2x 上样缓冲液	125mM Tris HCl, pH6.8, with 4% SDS, 20%glycerol and 0.004% bromphenol blue

### 附件 2. 细胞裂解液制备

- 1) 悬浮细胞和半贴壁细胞从细胞培养瓶上吹下来后放入离心管中, 1000rpm 离心 5 分钟。贴壁细胞用细胞刮子轻轻从瓶壁上刮下来, 放入离心管中 1000rpm 离心 5 分钟。
- 2) 预冷的 1xPBS 重悬细胞, 1000rpm 离心 3min, 弃上清。重复一次。
- 3) 根据细胞的量加入相应体积的细胞裂解液, (例如: T75 细胞瓶底部细胞汇合度大于 90%, 一般约 0.5-1x10<sup>7</sup> 细胞, 需要加入 1mL 细胞裂解液)。反复吹打后冰上放置 10-20min, 让细胞充分裂解。
- 4) 用超声破碎仪将细胞裂解液超声, 直至细胞裂解液透明, 不再粘稠。冰上放置 30min 之后, 12000rpm, 4 $^{\circ}$ C 离心 10min。取上清, -80 $^{\circ}$ C 冷冻保存。