

Anti-GFP 亲和凝胶

Cat#: IP0057

(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。GFP 常用于真核蛋白质重组表达标记。Anti-GFP 亲和凝胶, 由高品质的 GFP 鼠单克隆抗体与红色增强型 Sepharose 4B 琼脂糖颗粒共价偶联制成, 具有高载量 (至少为 1.2mg protein/ml 凝胶), 高特异性, 性质稳定, 可反复使用的特点, 可用于 GFP 标签融合蛋白的免疫 (共) 沉淀检测。

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。
- 载量:** 1ml Sepharose 4B 琼脂糖颗粒, 共价偶联 800 μ g Anti-GFP 鼠单克隆抗体, 可沉淀至少 1.2mg GFP 融合蛋白。
- 成分:** 共价偶联 Anti-GFP 鼠单克隆抗体的 Sepharose 4B 琼脂糖颗粒, 1ml 溶于 2ml PBS+50%甘油中。
- 保存方法:** 在加入了 50%甘油和 0.2%叠氮钠的 PBS 保存液中, -20 $^{\circ}$ C可保存 1 年。

三. 使用方法 (以下步骤仅供参考, 客户可根据经验自行调整)

细胞裂解液制备 (以培养的哺乳动物细胞为例)

- 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 PBS 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, 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, 冷冻保存。

免疫 (共) 沉淀法检测 GFP 标签蛋白质

- 1) 重悬 Anti-GFP 标签亲和凝胶至均一, 转移 30 μ l 混合液(约含 15 μ l 凝胶)至离心管中, 加入 5 倍凝胶体积 PBS, 5000rpm x 30sec, 弃上清, 重复该步骤清洗凝胶三次。
- 2) 加入适量含有目标蛋白的真核细胞裂解液, 室温孵育 2hr 或者 4 $^{\circ}$ C孵育过夜。
- 3) 加入 5 倍凝胶体积 PBS, 用上述离心法清洗凝胶三次。离心, 弃上清。

- 4) 加入 5x 蛋白质上样缓冲液, 煮沸 5min, 冷却至室温并离心。
- 5) 取上清进行 SDS-PAGE 或 Western Blotting 检测。

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
中和液:	1M Tris HCl 缓冲液, pH8.0
10xPBS:	1.5M PBS buffer, pH7.5, with 2‰ Azide (使用时须用双蒸水稀释 10 倍)
上样缓冲液 (5x):	Tris-HCl pH6.8 (60 mM); SDS (2%); 溴酚兰 (0.1%); 甘油 (25%); β -巯基乙醇 (14.4 mM)