

Note: 请勿离心，轻柔混匀后使用。

性能指标

应用范围	GFP 标签融合蛋白的免疫（共）沉淀。 GFP 标签可以位于蛋白的 N 端，C 端，如 N 端 GFP 融合蛋白（GFP-Protein）、C 端 GFP 融合蛋白（Protein-GFP）。
抗体属性	Anti-GFP 纳米抗体。
凝胶属性	磁珠，平均粒径 3 μm 。
凝胶载量	0.5mL 磁珠，共价偶联 2mg Anti-GFP 小鼠纳米抗体。 0.5mL Anti-GFP 免疫磁珠，可沉淀至少 0.6mg GFP 融合蛋白。
主要成分	0.25mL Anti-GFP 免疫磁珠，保存于 0.75mL 含防腐剂的 PBS 中。

注意事项

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品以悬液形式提供亲和磁珠，使用前先温和重悬磁珠悬液，然后按照需求取用。
4. 勿离心、冷冻、干燥磁珠，勿使用超声处理磁珠，勿使酸处理磁珠时间超过 10min。
5. 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。
6. 配套使用的相关试剂，需实验室自备。

使用方法

1. 目标蛋白样品制备

1) 血清及分泌表达目标蛋白样品处理

收集血清或培养基上清，检测目标蛋白浓度。如果目标蛋白质浓度较高，建议用 1×PBS 稀释至蛋白质终浓度为 10~100 $\mu\text{g/mL}$ ，以备后续实验。

2) 细胞内表达目标蛋白样品处理

- a. 将悬浮细胞或贴壁细胞从细胞培养瓶上吹下来后转入离心管中，1000rpm 离心 5min，弃上清。
- b. 用预冷至 4°C 的 1×PBS 重悬细胞，1000rpm 离心 3min，弃上清。重复 1 次。
- c. 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。

注：一般 1mL 细胞裂解液可以处理约 $0.5\sim 1\times 10^7$ 个细胞。为了避免目标蛋白质降解，您可以添加蛋白酶抑制剂（PMSF 工作浓度：0.1~1.0mmol/L）。

- d. 用超声破碎仪处理细胞裂解液，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。冰上放置 30min 之后，12000rpm，4°C 离心 10min。取上清，可立即进行下一步实验或置于 -80°C 冻存。

注：若无超声破碎仪，也可使用削成斜口的枪头或注射器反复吹吸，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。

2. 对照组设置（仅供参考，实验过程中请按实际需要调整）

1) 阴性对照

- a. 抗体的阴性对照：以磁珠偶联 Mouse IgG 亚型标签抗体为例，选择 Mouse IgG 免疫磁珠（MIP100）做为抗体的阴性对照，

For Research Use Only

使用方法与磁珠偶联抗体相同。

- b. 蛋白的阴性对照：使用不表达靶蛋白 X 但表达无关蛋白 Y 的蛋白样品做对照，处理方法与待对照靶蛋白相同。

2) 阳性对照

- a. 以未添加磁珠凝胶偶联抗体处理的蛋白样品作为阳性对照，即 Input 组。上样缓冲液制备方法与实验组相同。

3. 免疫（共）沉淀法检测 GFP 标签蛋白质

- a. 温和重悬 Anti-GFP 免疫磁珠，混合均匀，取 40μL 磁珠悬液（约含 10μL 磁珠）至离心管中。加入 500μL 的 1×PBS 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 2 次。

注：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。

- b. 加入 50-200μL 含有目标蛋白的样本溶液，轻柔重悬磁珠，室温摇床孵育 2h 或者 4℃孵育过夜。
c. 磁力架上静置 10 sec 后，将上清液转移到新的离心管中备用（上清液可用于检测 GFP-tag 蛋白是否存在残留）。加入 500μL 1×PBS，温和混匀，清洗磁珠，磁性分离，弃上清。重复 2 次。
d. 加入 20μL 1×PBS 和 5μL 5×上样缓冲液，煮样 5min，冷却至室温并离心。
e. 取上清进行 SDS-PAGE 实验，以备后续的 Western Blotting 检测。

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 纳米抗体免疫磁珠，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。具有高载量，高特异性，操作迅速便捷和性质稳定的特点，可用于 GFP 标签融合蛋白的免疫（共）沉淀。

储存方法

4℃可保存 12 个月。

For Research Use Only