



## Anti-GFP 免疫磁珠

### 产品描述

Anti-GFP 磁珠是粒径为 200nm 的纳米磁珠表面上共价结合了大量的高质量鼠源抗 GFP 单克隆抗体。纳米级磁珠提供的超大比表面积, 具有更多的结合位点, 磁珠使用量更少, 非特异性吸附率低。本产品广泛应用于细胞裂解物、细胞分泌上清、血清、腹水等样品中带有 GFP 标签融合蛋白的免疫沉淀 (IP) 或免疫共沉淀 (Co-IP)。由于采用磁性分离, 使得每次 IP 和 Co-IP 可以节省 40% 的时间。

### 订购信息

产品名称	货号	规格
Anti-GFP 免疫磁珠	AP62L212	1 mL

### 运输与保存

蓝冰运输。4°C 保存, 有效期 12 个月。**注:** 避免冻融或离心磁珠。

### 技术参数

基质	硅基磁珠
配体	鼠源抗 GFP 单克隆抗体
粒径	200nm
磁珠浓度	10mg/mL
结合能力	≥ 0.8 mg GFP 标签融合蛋白/mL 磁珠
适用范围	IP, Co-IP 等

### 使用方法

#### 贴壁细胞样品:

- 移去培养基, 用 PBS 洗细胞两次。
- 收集细胞至 1.5 mL EP 管内, 按比例加入 IP Lysis/Wash Buffer, 同时加入 PMSF 等相应的抑制剂, 混匀后置于冰上静置 5-20 min (期间混匀几次)。
- 4°C, 12000-16000xg, 10 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 (或置于 -80°C 长期保存)。

表 1. 培养皿 IP Lysis/Wash Buffer 推荐使用体积

培养皿大小/表面积	IP Lysis/Wash Buffer 体积
100 mm x 100 mm	500-1000 $\mu$ L
100 mm x 60 mm	100-300 $\mu$ L
6 孔板	100-200 $\mu$ L

#### 悬浮细胞样品:



1. 4°C、500-1000xg、10 min, 收集细胞, 弃上清。
2. 用 PBS 洗细胞一次, 即用 PBS 将细胞团重悬, 4°C、500-1000xg、5 min, 收集细胞, 弃上清。
3. 用预冷的 IP Lysis/Wash Buffer 重悬细胞。每 50 mg 细胞使用 500 $\mu$ L IP Lysis/Wash Buffer。同时加入 PMSF 等相应的抑制剂, 混匀后置于冰上静置 5-20 min (期间混匀几次)。
4. 4°C, 12000 -16000xg, 10 min 离心收集上清液, 置于冰上以备后续实验 (或置于-80°C长期保存)。

#### 血清样品:

一般建议建议用 IP Lysis/Wash Buffer 稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 50-150 $\mu$ g/mL, 置于冰上备用 (或置于-20°C长期保存)。

#### 免疫沉淀:

**注:** 为保证磁珠均匀分布, 使用前通过反复颠倒或轻微涡旋混匀瓶中磁珠。

1. 将 25-50 $\mu$ L 的 Anti-GFP 免疫磁珠加入 1.5 mL 离心管中。
2. 向磁珠中加入 500  $\mu$ L 预冷 PBS, 轻柔混匀。
3. 将离心管放入磁力架中收集磁珠到离心管的一边, 去除上清。
4. 向离心管中加入 200-500  $\mu$ L IP Lysis/Wash Buffer。颠倒离心管数次或轻微涡旋混匀 1 min。用磁力架收集磁珠, 去除上清。
5. 将含有 GFP 标记蛋白加入装有磁珠的离心管中, 保持混匀室温下孵育 1-2 h, 或 4°C 2-4 h。
6. 用磁力架收集磁珠, 除去未结合的样品, 保存以备分析。
7. 向离心管中加入 1000  $\mu$ L IP Lysis/Wash Buffer, 轻柔混匀磁珠 5-10min。收集磁珠, 弃上清。再重复洗两次。
8. **变性洗脱:** 向离心管中加入 80-100  $\mu$ L SDS-PAGE Sample Loading Buffer (1 $\times$ ), 将样品置于 100°C水浴或者金属浴中加热 10 min。通过磁力架分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。**注:** 如需保持蛋白活性, 也可采用以下洗脱方式。

**低 pH 洗脱:** 向离心管中加入 100  $\mu$ L Elution Buffer。保持混匀在室温下孵育离心管 5-10 min。通过磁力分离磁珠, 保留含有目的抗原的上清。每 100  $\mu$ L 洗出液中加入 20  $\mu$ L Neutralization Buffer 来中和低 pH。

#### 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 请勿高速离心、干燥或冷冻磁珠, 这些操作会导致磁珠聚集而降低结合能力。
3. IP 实验中不同类型的抗体与抗原结合的亲和性是有区别的, 抗体与抗原结合还会受到 IP Lysis/Wash Buffer 的影响, 因此, 如使用本实验步骤不能获得最佳的实验结果, 可自行优化操作细节或者筛选及配制缓冲液进行实验, 推荐使用李记生物相关试剂, 详见底部。
4. 磁珠使用前应充分振荡均匀。磁珠应保存在储存溶液中, 防止干燥。

#### 相关产品推荐

1X PBS (无菌) (货号: AC08L011)

Western/IP 细胞裂解液 (带抑制剂) (货号: AP01L076)

蛋白示踪上样缓冲液 (5x) (货号: AP14L036)