

Anti-GFP Nanobody Agarose Beads

| 品牌 | 货号 | 产品名称 | 规格 | 保存条件 |
|----------------|------------|------------------------------------|-----|--|
| KEL Biotech | KC1360-001 | Anti-GFP Nanobody Agarose Beads | 1ml | PBS 内含 0.02% (w/v) NaN ₃ , 4°C条件下保存。 |

【产品介绍】

GFP Beads 是一种绿色荧光蛋白结合蛋白偶联的琼脂糖，能够高效特异地结合绿色荧光蛋白 GFP，其结合效率可高达 4 微克/10 微升，相比于直接运用 GFP 抗体和 proteinA/G 偶联的 Beads，其效率要高很多。该 Beads 可运用于两个蛋白或者多个蛋白的互作分析（Co-IP），蛋白和 DNA 互作（DNA pull down 或者 CHIP），蛋白和 RNA 互作（RIP）还可以用作质谱分析以及酶活分析。

GFP beads 产品不仅能够高效识别结合各种 GFP,比如 Egfp、ACGFP, wtGFP, GFP S65T, TagGFP 等，还能识别 CFP、YFP、BFP 等荧光蛋白。产品结合效率非常高，比常规结合方式——抗体+beads 的方式高出很多（如图一）。

【GFP Beads 适应样品范围广】

适用于组织，器官，细胞，植物材料，细菌，酵母，总之，有 GFP 蛋白的样品该 beads 都能够直接识别结合。

【使用该产品做 Co-IP 方法】

1. 轻轻上下颠倒 GFP-beads，使得 beads 充分混匀，用剪过的枪头吸出所需体积量的 beads 至 1.5ml 的离心管中。一个样品大约 30ul beads。
2. 加入 1ml washing buffer，轻轻上下颠倒清洗 beads，然后 800g，4°C 离心 5min，吸掉上清液。如此重复三遍。
3. 将转染后的细胞弃掉上清，用 PBS 清洗一遍，然后胰酶重悬（为重悬充分，加入胰酶后 37°C 孵育 5min）。枪头轻轻重悬细胞转移至 1.5ml 离心管，800g 离心 5min，弃上清。
4. 利用以下 lysis buffer 裂解（10 mM Tris/Cl pH 7.5; 150 mM NaCl; 0.5 mM EDTA; 0.5% NP-40; 1xcocktail）。枪头充分吹吸至细胞完全裂解，冰浴 10min。
5. 高速离心后，将上清液吸出，加入 30 微升 GFP-BEADS 孵育，4°C 垂直混匀 2-3h（也可 4°C 过夜）。推荐 30ul beads 结合至少两个 6cm 皿细胞表达量的蛋白，在蛋白表达量低的情

况下可多收集样本量保证样品饱和 beads。

6. 800g, 4℃离心 5min, 吸掉上清液, (可取一定量上清液作为对照), 加入 1ml 预冷的 washing buffer, 上下颠倒清洗 beads, 然后 800g, 4℃离心 5min。重复 3-5 遍。
7. 充分除去上清, 加入 30-50 微升 4x sample buffer, 混匀后 100℃煮 10min。如需蛋白不变性或非变性则需 50-100 微升 200 毫摩尔 PH2.5 的甘氨酸溶液洗脱目的蛋白, 可在 4℃条件下垂直混匀 10min, 800g 离心, 将上清转移至新离心管, 加入 5-10 微升中和 buffer 1 M Tris pH 10.4 (四度下的 PH)。
8. 13000rpm 离心 10min, 上清液可用 western blot 鉴定。如果是质谱检测, wb 后切胶酶解, 纯化后上机检测。

【推荐 washing buffer】

10 mM Tris/Cl pH 7.5; 150 mM NaCl; 0.5 mM EDTA。



(图一：产品使用结果图)

【质量保证】

GFP Beads 的每批产品实行严格质量检验, 并进行多次反复实验验证, 以确保产品质量。请用户使用前务必认真阅读本手册。

【使用限制】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。

在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。

