



# Anti-GFP Magarose Beads

## 目录

1. 产品介绍.....	1
2. 操作流程.....	1
3. 订购信息及相关产品.....	2

## 1. 产品介绍

**Anti-GFP Magarose Beads** 是一款检测和纯化 GFP、eGFP 及其融合表达蛋白的亲琼脂糖磁珠。Magarose Beads 系列产品具有超顺磁性、快速磁响应性、丰富羟基官能团和相对集中的粒径等特点,是医学与分子生物学研究中重要的载体工具。**Anti-GFP Magarose Beads** 是以重组的抗 GFP 纳米抗体为亲和配体,特异性结合 GFP、eGFP 及其融合表达蛋白,不结合 BFP 标签蛋白。

表 1. Anti-GFP Magarose Beads 产品性能

项目	性能
基质	磁性琼脂糖微球
配体	Anti-GFP Nanobody
结合能力 (/ml 磁珠)	>1 mg GFP 标签蛋白
粒径 (μm)	30-100
储存缓冲液	1×PBS, 0.02% Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
磁珠体积	磁珠体积占悬浮液体积的 20%
储存温度	2°C - 8°C

## 2. 操作流程

### 2.1 样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值,可以用平衡液对样品或细胞培养液稀释,或者用平衡液透析。样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤,减少杂质,提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

### 2.2 缓冲液准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

平衡/洗杂液: 50 mM Tris, 0.15 M NaCl, pH7.4

洗脱液: 0.1 M Glycine-HCl, pH3.0

中和液: 1 M Tris-HCl, pH8.0

### 2.4 样品纯化操作流程

1) **磁珠预处理:** 将 **Anti-GFP Magarose Beads** 颠倒数次,保证磁珠完全混匀,取计算量(根据样品体积和所含样品含量计算)的磁珠悬浮液,转移至离心管中,放置在磁分离器上,静置大约 1 min,待溶液变澄清后,用移液器吸弃清液。将离心管磁分离器上取下来,加入与悬浮液等体积的平衡液,使用枪头反复吹打 5 次,将离心管置于磁分离器上,大约 1 min,待溶液变澄清后,用移液器吸弃清液,重复洗涤 2 次。

2) **样品吸附:** 在步骤 2.4.1 预处理的磁珠管中加入样品溶液,漩涡振荡均匀,在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管,促使样品和磁珠充分接触并吸附,混合 30 min 以上(具体时间根据结合效果调整),置于磁分离器上,大约 1 min,待溶液变澄清后,吸弃上清液。

3) **洗杂:** 向离心管中加入 5 倍磁珠体积的洗杂液,振荡悬浮,置于磁分离器上,大约 1 min,待溶液变澄清后,吸弃上清液。该操作重复两次以上。最后一次洗杂建议更换新的离心管。

4) **酸性洗脱:** 在上述离心管中加入 3-5 倍磁珠体积的洗脱液(0.1 M Glycine-HCl, pH3.0),用移液器吹打 5 次,然后在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管,5-10 min 后,置于磁分离器上,大约 1 min,待溶液变澄清后,吸取并保留上清液,为洗脱组份,即为目标蛋白。该操作建议重复两次。

向洗脱组分中加入洗脱体积十分之一的中和液,调节 pH 值至 7.0-8.0。

**注:** 酸性洗脱后磁珠要立即用平衡液平衡, **Anti-GFP Magarose Beads** 在洗脱液中不要放置超过 20 min。

**变性洗脱和检测:** 此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。从磁分离器上取下离心管,向其中加入等体积的 2×SDS-PAGE Loading Buffer 混合均匀,95°C 加热 10 min。然后进行磁性分离,收集上清液进行 SDS-PAGE 检测。

**注:** **Anti-GFP Magarose Beads** 变性洗脱后不能重复使用。



## 2.5 IP/Co-IP 操作流程

### 1) 磁珠预处理

参考 2.4 第一步磁珠预处理进行。

2) **磁珠结合靶蛋白:** 将含有 GFP 标签的靶蛋白样品加入到处理好的磁珠中, 颠倒混匀。将离心管置于混合仪上, 室温孵育 30 min 以上 (具体时间根据结合效果调整)。

3) **磁珠洗杂:** 将离心管置于磁分离器, 大约 1 min, 待溶液变澄清后, 用移液器移出上清液, 保留, 以备取样检测。向离心管中加入 5 倍悬浮液体积的洗杂液, 使用枪头反复吹打 5-10 次, 将离心管置于磁分离器上, 大约 1 min, 待溶液变澄清后, 用移液器吸弃上清液。重复上述步骤 2 次。即得到靶蛋白-磁珠复合物。如果进行的是 IP 实验, 则跳过 4、5 两步, 直接进行第 6 步。

4) **目标蛋白与靶蛋白-磁珠复合物的结合:** 将含有目标蛋白样品加入到处理好的靶蛋白-磁珠复合物中, 颠倒混匀。将离心管置于混合仪上, 室温孵育 30 min 以上 (具体时间根据结合效果调整)。

5) **磁珠洗杂:** 将离心管置于磁分离器, 大约 1 min, 待溶液变澄清后, 用移液器移出上清液, 保留, 以备取样检测。向离心管中加入 5 倍悬浮液体积的洗杂液, 使用枪头反复吹打 5-10 次, 将离心管置于磁分离器上, 大约 1 min, 待溶液变澄清后, 用移液器吸弃上清液。重复上述步骤 2 次。目标蛋白通过与靶蛋白的结合, 从混合体系中被捕获。

### 6) 洗脱目的蛋白: A 酸性洗脱:

在上述离心管中加入 3-5 倍磁珠体积的洗脱液 (0.1 M glycine HCl, pH3.0), 用移液器吹打 5 次, 然后在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管, 5-10 min 后, 置于磁分离器上, 大约 1 min, 待溶液变澄清后, 吸取并保留上清液, 为洗脱组分, 即为目标抗体。该操作建议重复两次。

向洗脱组分中加入洗脱体积十分之一的中和液, 调节 pH 值至 7.0-8.0。

**注:** 酸性洗脱后磁珠要立即用平衡液平衡, Anti-GFP Magarose Beads 在洗脱液中不要放置超过 20 min。

### B 变性洗脱:

此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。SDS-PAGE Loading Buffer 中含有的 SDS 可以使 Anti-GFP 抗体变性, 洗脱后的 Anti-GFP Magarose Beads 没办法重复使用。

每管中加入磁珠体积等量的 2×SDS-PAGE Loading Buffer, 95℃ 加热 10 min。将离心管置于磁分离器上, 大约 1 min, 待溶液变澄清后, 吸取上清 SDS-PAGE 电泳检测, 也可以离心后取上清用于电泳检测。

## 3. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Anti-GFP Magarose Beads	SM038001	1 ml
	SM038005	5 ml
	SM038025	25 ml
	SM038100	100 ml
	SM03801L	1 L
Anti-GFP Affinity Beads 4FF	SA070001	1 ml
	SA070005	5 ml
	SA070025	25 ml
	SA070100	100 ml
	SA070500	500 ml
	SA07001L	1 L

