

GFP-Trap[®] 琼脂糖珠

产品货号: gta

chromotek
now part of proteintech

简介

GFP-Trap[®] 琼脂糖珠是由一种抗绿色荧光蛋白(GFP)纳米抗体(VHH)与琼脂糖珠共价结合组成,可用于从哺乳动物、植物、细菌、酵母、昆虫等各种生物的细胞提取物中免疫沉淀 GFP-融合蛋白。

特性

配体	抗 GFP 的纳米抗体 (VHH)
特异性	与常见的 GFP 衍生物特异性结合 (登录 chromotek.com 或 ptgcn.com 查询可识别 GFP 变体列表)
结合能力	每 25 μ L 琼脂糖珠悬液结合 25–30 μ g GFP 重组蛋白
珠粒大小	90 μ m (交联 4% 琼脂糖珠)
缓冲液兼容性	见缓冲液兼容性表
储存缓冲液	20% 乙醇
储存条件	收货后于 4°C 储存。请勿冷冻!
稳定性	收货后 4°C 可稳定保存 1 年。
装运	室温装运
RRID	AB_2631357

缓冲液成分建议

缓冲溶液要求

新: 缓冲液成分更新

缓冲液	成分
Lysis buffer	10 mM Tris/Cl pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.5 mM EDTA, 0.5 % Nonidet™ P40 Substitute (4°C 下调整 pH)
RIPA buffer	10 mM Tris/Cl pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.5 mM EDTA, 0.1 % SDS, 1 % Triton™ X-100, 1 % deoxycholate (4°C 下调整 pH)
Dilution Buffer	10 mM Tris/Cl pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.5 mM EDTA (4°C 下调整 pH)
Wash buffer	10 mM Tris/Cl pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.05 % Nonidet™ P40 Substitute, 0.5 mM EDTA (4°C 下调整 pH)
2x SDS Sample buffer	120 mM Tris/Cl pH 6.8, 20 % glycerol, 4 % SDS, 0.04 % bromophenol blue, 10 % β-mercaptoethanol
Acidic elution buffer	200 mM glycine pH 2.5 (4°C 下调整 pH)
Neutralization buffer	1 M Tris pH 10.4 (4°C 下调整 pH)

注: 对于其他细胞类型如酵母、植物、昆虫、细菌, 请使用相应的细胞裂解缓冲液。

注: 考虑使用无去垢剂的洗涤缓冲液进行免疫共沉淀。

GFP-Trap[®] 琼脂糖珠

产品货号: gta

γchromotek
now part of proteintech

缓冲液兼容性表

缓冲液成分	最大浓度
DTT	1 mM
Glycerol	30 %
Guanidine HCl	4 M
NaCl	2 M
Nonidet [™] P40 Substitute	不高于 2 %
SDS	1 %
TCEP	0.2 mM
Triton [™] X-100	不高于 1 %
Urea	8 M

产品规格

产品	产品货号	规格
GFP-Trap [®] 琼脂糖珠	gta-10	10 个反应 (250 μL 悬浮液)
	gta-20	20 个反应 (500 μL 悬浮液)
	gta-100	100 个反应 (2.5 mL 悬浮液)
	gta-200	200 个反应 (5 mL 悬浮液)
	gta-400	400 个反应 (10 mL 悬浮液)
GFP-Trap [®] 琼脂糖珠试剂盒	gtak-20	20 个反应 (500 μL 悬浮液), 含缓冲液

流程预览

准备工作

所有步骤均 4°C 操作;
准备细胞裂解缓冲液和细胞裂解条件

细胞裂解物



每 10^6 - 10^7 个细胞加入 200 μ L 的 lysis buffer;
裂解细胞并离心取上清;
混合 200 μ L 上清样品和 300 μ L dilution buffer

平衡微珠



将 25 μ L 微珠悬浮液转移到 1.5 mL 的 EP 管中;
用 500 μ L dilution buffer 平衡 3 次

结合蛋白



向微珠中加 500 μ L 细胞裂解物; 4°C 上下旋转 1 小时

洗微珠



用 wash buffer 洗涤微珠 3 次, 每次 500 μ L; 在最后一次洗涤步骤中, 将微珠转移到一个新 EP 管中

用 SDS Sample buffer 洗脱



80 μ L 2X SDS sample buffer 重悬微珠;
95°C 以上沸水浴 5 分钟;
上清可用于 SDS-PAGE /WB 分析

免疫沉淀流程

细胞材料

以下方案描述了哺乳动物细胞裂解物的制备。

对于其他类型的细胞，我们建议使用 500 μg 细胞提取物，并从微珠平衡步骤开始实验。

哺乳动物细胞裂解

注意：使用预冷的缓冲液收获细胞并裂解细胞。强烈建议将蛋白酶抑制剂添加到裂解缓冲液中，以防止目标蛋白及其结合物降解。对于一次免疫沉淀反应，我们推荐使用约 10^6 - 10^7 个细胞。

1. 选择裂解缓冲液。

- 对于细胞质蛋白，通过上下吹打将细胞团重悬于 200 μL 预冷的 Lysis buffer 中。

注：Lysis buffer 使用前，需要额外添加蛋白酶抑制剂混合液和 1mM PMSF。

- 对于核/染色质蛋白，将细胞团重悬于 200 μL 预冷的 RIPA 缓冲液中。

注：RIPA 缓冲液使用前需要额外添加 DNaseI (75- 150 Kunitz U/mL)，MgCl₂ (2.5 mM)，蛋白酶抑制剂混合液和 PMSF (1 mM)。

2. 冰上放置 30 分钟，然后每 10 分钟充分混匀一次。

3. 4°C，17,000x g 离心细胞裂解液 10 分钟。将澄清的裂解物（上清液）转移到预冷 EP 管中，并加入 300 μL Dilution buffer（Dilution buffer 使用前需要额外添加蛋白酶抑制剂混合液和 1mM PMSF）。如果需要，可保存 50 μL 稀释的裂解物用于进一步分析（如进行 input 对照）。

微珠平衡

1. 通过移液枪吹打或上下旋转 EP 管，重悬微珠。不要漩涡微珠！

2. 将 25 μL 的微珠悬浮液转移到 1.5 mL 的离心管中。

3. 加入 500 μL 预冷的稀释缓冲液。

4. 4°C，2500x g 离心 5 分钟收集珠子。丢弃上清。

注：也可使用离心柱（sct）平衡微珠。

蛋白结合

1. 将稀释的裂解物加入到平衡的微珠中。

2. 在 4°C 上下旋转 1 小时。

洗涤

1. 在 4°C 下 2500x g 离心 5 分钟，沉淀珠子。
2. 如果需要，可保存 50 µL 上清液用于进一步分析（穿流液 / 非结合组分）。
3. 丢弃剩余的上层清液。
4. 加入 500 µL wash buffer 重悬微珠。
5. 4°C，2500x g 离心 5 分钟沉淀微珠，丢弃剩余的上清液。
6. 重复上述洗涤步骤（步骤 4 和 5）至少两次。
7. 在最后的洗涤步骤中，将微珠转移到新管中。

可选：为了增加 wash buffer 的强度，可测试各种盐浓度，如 150 mM-500 mM，和 / 或添加非离子洗涤剂，如 Triton™X-100（见缓冲液兼容性表中的最大浓度）

注：也可使用离心柱（sct）进行微珠洗涤。

2x SDS sample buffer(Laemmli) 洗脱

1. 丢弃剩余的上清液。
2. 加入 80 µL 2x SDS sample buffer 重悬微珠。
3. 在 95°C 以上沸水浴 5 分钟，从微珠上分离免疫复合物。
4. 4°C，2500x g 离心 2 分钟，沉淀珠子。
5. 用 SDS-PAGE /WB 分析上清。

注：针对免疫印迹检测，我们推荐使用 GFP 抗体 [3H9] (3h9) 或者 GFP 抗体 [PABG1] (PABG1) 以及配套的羊驼抗兔的纳米二抗 Alexa Fluor® 488/568/647 [CTK0101, CTK0102] (srbAF488-1; srbAF568-1; srbAF647-1)。

Acidic elution buffer 洗脱

1. 丢弃剩余的上清液。
2. 加入 50–100 µL Acidic elution buffer，在 4°C 或室温不停吹打 30 - 60 秒。
3. 4°C，2500x g 离心 5 分钟，沉淀微珠。
4. 将上清液转移到新的离心管中。
5. 加入 5-10 µL Neutralization buffer 中和洗脱产物。
6. 至少重复洗脱步骤（步骤 2，3，4，5）一次以提高洗脱效率。

注：室温洗脱比 4°C 效率更高。缓冲液要在室温下预温。

注：也可使用离心柱（sct）分离微珠。

GFP-Trap[®] 琼脂糖珠

产品货号: gta

chromotek
now part of proteintech

相关产品

GFP 相关产品	货号
GFP-Trap [®] Agarose	gta
GFP-Trap [®] Agarose Kit	gtak
GFP-Trap [®] Magnetic Agarose	gtma
GFP-Trap [®] Magnetic Agarose Kit	gtmak
GFP-Trap [®] Magnetic Particles M-270	gtd
GFP-Trap [®] Magnetic Particles M-270 Kit	gtdk
iST GFP-Trap Kit for IP/MS	gtak-iST
GFP-Trap [®] Multiwell Plate	gtp
Binding Control Agarose	bab
Binding Control Magnetic Agarose	bmab
Spin columns	sct
GFP VHH, recombinant binding protein	gt
GFP VHH, biotinylated recombinant binding protein	gtb
EGFP, recombinant purified protein	EGFP
GFP antibody [3H9] (rat monoclonal)	3h9
GFP antibody [PABG1] (rabbit polyclonal)	PABG1
Nano-Secondary [®] alpaca anti-human IgG/anti-rabbit IgG, recombinant VHH, Alexa Fluor [®] 488 [CTK0101, CTK0102]	srbAF488-1
Nano-Secondary [®] alpaca anti-human IgG/anti-rabbit IgG, recombinant VHH, Alexa Fluor [®] 568 [CTK0101, CTK0102]	srbAF568-1
Nano-Secondary [®] alpaca anti-human IgG/anti-rabbit IgG, recombinant VHH, Alexa Fluor [®] 647 [CTK0101, CTK0102]	srbAF647-1
GFP-Booster Alexa Fluor [®] 488	gb2AF488
GFP-Booster Alexa Fluor [®] 568	gb2AF568
GFP-Booster Alexa Fluor [®] 647	gb2AF647
GFP-Booster ATTO488	gba488
GFP-Booster ATTO594	gba594
GFP-Booster ATTO647N	gba647n

有关产品详情、信息和订购，请访问 www.chromotek.com 或 www.ptgcn.com。

联系方式

ChromoTek GmbH ChromoTek Inc.
Am Klopferspitz 19
82152 Planegg-Martinsried
Germany
+49 89 124 148 80
support@chromotek.com

Proteintech 中国公司
武汉市高新大道666号D3-3
027-87531629/027-87531627
support@chromotek.com
Proteintech-CN@ptglab.com

PROTEINTECH NORTH AMERICA (HQ)
Proteintech Group, Inc
5400 Pearl Street, Suite 300
Rosemont, IL 60018, USA
1-888-478-4522
proteintech@ptglab.com

免责声明

仅用于研究应用，不用于诊断或治疗用途！

ChromoTek, GFP Trap® 和 Nano Secondary™ 是 ChromoTek GmbH 的注册商标。Nanobody 是 Sanofi 公司 Ablynx 的注册商标。Dynabeads™ 是 Life Technologies AS 的商标。Life Technologies AS 是 Thermo Fisher Scientific Inc. 的一部分。Alexa Fluor® 是 Life Technologies Corporation 的注册商标。Life Technologies Corporation 是 Thermo Fisher Scientific Inc. 的一部分。其他供应商的产品可能是相应供应商的商标或注册商标，关于其他供应商产品的声明是根据我们掌握的知识给出的。