Product Datasheet

GFP Antibody(HRP conjugated)

Catalog No: AB2005 Reactivity: All

Isotype: Rabbit IgG Applications: WB

www.abways.com

Information

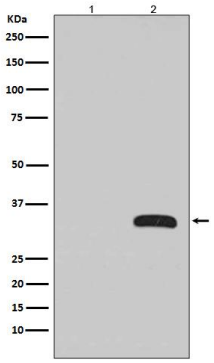
UniProt ID: P42212
All Names: GFP; yfp; Green fluorescent protein;
Form: Liquid
Storage instructions: Store at +4°C short term. Store at -20°C long term. Avoid freeze / thaw cycle.
Storage buffer: pH 7.4, 150mM NaCl, 0.02% sodium azide and 50% glycerol.
Purity: Affinity-chromatography
Immunogen: A synthesized peptide
Molecular Wt.: 27 kDa

Application

WB 1:3000~1:10000

Background

Green fluorescent protein(GFP) has been engineered to produce a vast number of variously colored mutants, fusion proteins, and biosensors. Fluorescent proteins and its mutated allelic forms, blue, cyan and yellow have become a useful and ubiquitous tool for making chimeric proteins, where they function as a fluorescent protein tag. Typically they tolerate N- and C-terminal fusion to a broad variety of proteins.



Western blot analysis of GFP fusion protein expression in (1) 293T cell lysate; (2) 293T cell transfected GFP fusion protein with GFP Antibody(HRP conjugated).

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.
www.abways.com

WB(HRP 交联抗体用)操作步骤

操作流程

WB(HRP 直标一抗用)操作步骤

1. 常规 SDS-PAGE 电泳，转印后的 PVDF 膜，用 TBST 漂洗掉电转液后，直接放入含有 2-5%脱脂奶粉的 TBST 中（脱脂奶粉要充分溶解在 TBST 中，不能有奶粉颗粒存在。判断方法：在深色实验台面上，倒少量清水，把脱脂奶粉-TBST 溶液加一点到台面的清水中，看是不是溶液状态还是有细小的未溶解奶粉颗粒）。封闭时间：室温 1h。封闭时摇床转速不要太快，以液面微微有晃动为准。

2. 封闭结束后，用 TBST 清洗 3 次，每次 10min。摇床转速要让液面有明显晃动。

3. 第三次 TBST 清洗后，室温孵育 HRP 交联后的一抗 1h。一抗需要提前用含有 2-5%脱脂奶粉-TBST 稀释好。由于一抗已经交联好 HRP 酶，所以不要过夜孵育一抗。

4. 一抗抚育后，用 TBST 清洗 3 次，每次 10min。摇床转速要让液面有明显晃动。
5. 清洗后的膜放在曝光板上（HRP 交联一抗不需要再孵育二抗），去除多余的 TBST 液体，但不要膜变干。加上化学发光底物（底物的 A 液和 B 液要在室温放置 15-30 分钟，之后再混合 A 液和 B 液）。底物在膜上反应 30 秒到 1 分钟后，去掉多余的 ECL 底物（操作方法：用镊子把膜垂直夹起，膜上 ECL 底物液体重力自然下流，然后用滤纸把膜下边缘的多余 ECL 底物吸掉）。多余的 ECL 底物会一边发生发光反应一边到处流动，造成背景发黑。在膜上盖上玻璃纸后，用纸巾轻轻擦拭玻璃纸，赶走玻璃纸和膜之间的气泡，进入暗室曝光用 X 胶片曝光。或者直接用仪器曝光。

注：磷酸化抗体可以考虑用 1-5% BSA-TBST 代替脱脂奶粉-TBST。

TBST 配方

1×TBST 的终浓度为 Tris:0.02mol/L ， Nacl:0.1mol/L ，吐温-20：0.1% ，pH 值为 7.4。