



# Protein G Agarose Beads

## Protein G 琼脂糖亲和介质

版本号: V220101

货号: G102

保存: 4°C, 切勿冻结!

运输: 常温

货号	规格
G102-01	1 ml

### 【产品概述】

本产品是以 4% 浓度的交联珠状琼脂糖为载体, 结合原核重组表达 Protein G 为配基组成的介质悬液 (介质体积 50%)。可作为亲和吸附剂, 用来纯化多种来源的抗体和抗体亚型, 以及在免疫沉淀实验 (IP) 中捕获免疫复合物。本产品具有高特异性、高吸附力的特点。每 ml 介质可特异性结合 10-20 mg 蛋白。免疫沉淀实验中, 仅需取 10-20  $\mu$ l 介质与抗体混合液孵育。

### 【产品组分】

组分	规格
Protein G Agarose Beads	1 ml

储存缓冲液: 含 20% 乙醇的 1×PBS。 (介质悬液总体积 2 ml)

### 【保存条件】

4°C 保存, 保质期 24 个月; **切勿冻结!**

### 【操作步骤】

#### 抗体纯化

1. 介质准备: 用 1×PBS 充分洗涤介质, 完全去除存储缓冲液中的乙醇, 重悬于 PBS 中 (含 50% Protein G Agarose)。
2. 介质平衡: 取适量 Protein G Agarose 悬液装入层析柱, 用 5-10 倍介质体积的 100 mM TrisCl, pH 8.0 洗涤平衡。
3. 抗体结合: 将含有抗体的血清或其他液体样品高速 (14,000×g) 离心或采用 0.45  $\mu$ m 的滤膜过滤后, 缓慢加入层析柱, 使抗体与介质充分结合。
4. 洗涤介质: 用 5-10 倍介质体积的 100 mM TrisCl, pH 8.0 洗涤, 再用 5-10 倍体积的 10 mM TrisCl, pH 8.0 洗涤, 直至流出液无蛋白检出。
5. 抗体洗脱: 用 100 mM Glycine, pH 3.0 洗脱, 获得的纯化抗体立即加入 1/5 体积的 1 M TrisCl, pH 8.0 中和。
6. 介质再生: 介质经多次使用后结合抗体的能力会有所下降, 需要对介质进行再生。

#### 免疫沉淀 (以 $1 \times 10^7$ 个细胞为例)

1. 介质准备: 取 100  $\mu$ l Protein G Agarose, 用 1 ml 1×PBS 清洗两遍, 重悬于 PBS 中 (含 50% Protein G Agarose)。
2. 样品准备: 细胞用适合的裂解液 (如 IP 裂解液) 于 4°C 充分裂解, 4°C 14,000×g 离心 10 min, 收取上清。
3. 样品预结合: 每 0.5 ml 裂解液上清加入 40  $\mu$ l Protein G Agarose 重悬液 (相当于 20  $\mu$ l Protein G Agarose), 4°C 旋转摇床混匀孵育 30-60 min。4°C 500×g 离心 5 min, 转移上清至新离心管中。
4. 抗体孵育: 加入适量 (0.5-2  $\mu$ g) 待检蛋白的抗体至上述经过预结合的上清中, 4°C 混匀孵育 2 h。
5. 抗体/介质结合: 每 0.5 ml 含抗体的上清加入 40  $\mu$ l Protein G Agarose 重悬液 (相当于 20  $\mu$ l Protein G Agarose), 4°C 混匀孵育 2 h 或过夜。
6. 介质洗涤: 4°C 500×g 离心 5 min, 去除上清; 用 800  $\mu$ l PBS 重悬洗涤 Protein G Agarose 介质, 重复 3 次。
7. 结果检测: 加入 20-40  $\mu$ l 1×SDS-PAGE 上样缓冲液重悬 Protein G Agarose 介质; 煮沸 5 min 后, 500×g 离心, 取适量上清上样, SDS-PAGE 电泳, 经银染或 Western blot 检测目的蛋白。



**附表1. Protein G对不同种属抗体及不同IgG亚型的相对结合力**

Human	++++	Human IgG1	++++
Horse	++++	Human IgG2	++++
Cow	++++	Human IgG3	++++
Pig	+++	Human IgG4	++++
Sheep	++	Rat IgG1	+
Goat	++	Rat IgG2a	++++
Rabbit	+++	Rat IgG2b	++
Chicken	+	Rat IgG2c	++
Hamster	++	Mouse IgG1	++++
Guinea Pig	++	Mouse IgG2a	++++
Rat	++	Mouse IgG2b	+++
Mouse	++	Mouse IgG3	+++

**【备注】**

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。