For Research Use Only

Protein G Magrose beads

Catalog Number: PR40031

proteintech®

www.ptgcn.com

产品成分

Protein G是链球菌表面的一种细胞壁蛋白，可以结合哺乳动物免疫球蛋白部份亚型的Fc区，本产品是偶联有重组Protein G的beads，具有高结合力，高载量的特点，可应用于免疫沉淀/免疫共沉淀实验以及抗体的纯化。具体性能如下表:

指标	性能
基质	磁性琼脂糖微球
配体	重组蛋白G
载量	>30 mg 人IgG/mL微球（固体体积）
粒径（um）	20-99
pH稳定范围	3-10
储存缓冲液	含20%乙醇的1×PBS
储存温度	2℃-8℃

包装规格

1 mL/5 mL

保存条件

Beads保存在含20%乙醇的PBS中， 2℃-8℃保存，有效期2年。不可低于0℃保存。

使用方法

使用本产品前，先确认一抗种属和亚型，参考下表确认本产品与之兼容。如不确定亚型或出于兼容考虑，可以考虑Protein A/G Magarose beads，其结合能力参考下表。

种属	亚型	Protein A结合力	Protein G结合力
Human	IgA	varible	—
	IgD	—	—
	IgE	—	—
	IgG1	++++	++++
	IgG2	++++	++++
	IgG3	—	++++
	IgG4	++++	++++
	IgM	varible	—
Avian egg yolk	IgY	—	—
Cow		++	++++
Dog		++	+
Goat		—	++
Guinea pig	IgG1	++++	++
	IgG2	++++	++
Hamster		+	++
Horse		++	++++
Koala		—	+
Llama		—	+
Monkey (rhesus)		++++	++++
Mouse	IgG1	+	++++
	IgG2a	++++	++++
	IgG2b	+++	+++
	IgG3	++	+++
	IgM	variable	—
Pig		+++	+++
Rabbit	no distinction	++++	+++
Rat	IgG1	—	+
	IgG2a	—	++++
	IgG2b	—	++

	IgG3	+	++
Sheep		+/-	++

++++=结合能力强；++=结合能力中等；—=结合能力弱或没有结合。

免疫沉淀

方式一（SDS Sample buffer洗脱法）

1. 用预冷的含蛋白酶抑制剂的RIPA buffer裂解细胞或组织。取1-3 mg总蛋白的裂解物（体积控制在300-500 uL），加入80%-100%裂解物体积的Incubation buffer，加入1-4 ug特异性抗体，4℃旋转过夜。

2. 吸取等量蛋白裂解物，加入等量Incubation buffer并加入同种属等量的IgG孵育作为Control IgG对照组。4℃旋转过夜。

3. 将 Protein G Magarose Beads 轻柔颠倒数次，保证磁珠完全混匀，按每个IP取30-50 uL磁珠悬浮液，计算需要使用的磁珠总体积，移液器取计算体积的磁珠悬浮液转移至离心管中，将离心管放置在磁分离器上，静置30 s-1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。再将离心管磁从分离器上取下来，加入1 mL的PBS，使用枪头轻轻反复吹打 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，总共洗涤3次，用PBS重悬至取用磁珠的原体积。

4. 加入30-50 uL重悬的 Protein G Magarose beads，4℃ 旋转孵育1-4 h。

5. 用1 × Washing buffer（现加蛋白酶抑制剂）洗涤沉淀复合物，磁性分离，弃上清，累计洗涤3次。 最后一次洗涤上清尽量去除干净。

6. 加入100 uL 1 × Sample Buffer，重悬IP复合物beads，沸水浴加热5 min。

*为了获得更高的IP产物浓度，1x Sample Buffer可以适当减少，一般不建议低于50 uL。

7. 磁性分离吸附磁珠后，小心吸取上清转入新的EP管中。

8. 取20-40 uL样品进行免疫印迹检测，设置Control IgG对照和Input对照。

方式二（酸洗脱法）

1. 用预冷的含蛋白酶抑制剂的RIPA buffer裂解细胞或组织。取1-3 mg总蛋白的裂解物300-500 uL于1.5 mL微量离心管中，加入80%-100%裂解物体积的Incubation buffer，加入1-4 ug特异性抗体，4℃旋转过夜。

2. 吸取等量蛋白裂解物，加入等量Incubation buffer并加入同种属等量的IgG孵育作为Control IgG对照组。4℃旋转过夜。

3. 将 Protein G Magarose Beads 轻柔颠倒数次，保证磁珠完全混匀，按每个IP取30-50 uL磁珠悬浮液，计算需要使用的磁珠总体积，移液器取计算体积的磁珠悬浮液转移至离心管中，将离心管放置在磁分离器上，静置30 s-1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。再将离心管磁从分离器上取下来，加入1 mL的PBS，使用枪头轻轻反复吹打 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，总共洗涤3次，用PBS重悬至取用磁珠的原体积。

4. 向纯化柱中加入30-50 uL重悬的Protein G Magarose beads，4℃旋转孵育1-4 h。

5. 将离心管放置在磁分离器上，静置30 s-1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。

6. 用1 × Washing buffer（现加蛋白酶抑制剂）洗涤沉淀复合物，磁性分离，弃上清，累计洗涤3次。 最后一次洗涤上清尽量去除干净。

7. 向离心管中加入80 uL Elution buffer，使用枪头轻轻反复吹打 5 次，室温静置5-10 min，期间可以轻轻摇晃2-3次，重悬沉淀复合物，以达到更好的洗脱效果，将离心管放置在磁分离器上，静置30 s-1 min，待溶液变澄清后，用移液器将洗脱产物转移至新的做好标记的离心管中。

8. 向有洗脱产物的离心管中加入10 uL 碱中和液以及23 uL 5 x Sample Buffer，沸水浴加热5 min。

*为了获得更高的IP产物浓度，Elution buffer，碱中和液和5 x Sample Buffer可以按比例减少， 一般不建议Elution buffer低于50 uL。

9. 取20-40 uL样品进行免疫印迹检测，设置Control IgG对照和Input对照。

参考配方：

RIPA裂解液	配制： 1000 mL
Tris	6 g
NaCl	8.76 g
脱氧胆酸钠	5 g
SDS	1 g
NaF	0.42 g
EDTA.2Na.2H_2O	1.86 g
Triton X-100	10 mL
盐酸调pH至7.4，补ddH_2O定容至1000 mL，4°C保存	
注：PMSF及其它蛋白酶抑制剂现用现加	

5X SDS sample buffer	配制： 50 mL
Tris HCl (1M母液，pH 7.0)	12.5 mL
甘油	17.5 mL
SDS	7.5 g
溴酚蓝	15 mg
补ddH_2O至37.5 mL，分装并保存在-20°C	

现用现加还原剂：25% DTT (2M母液)

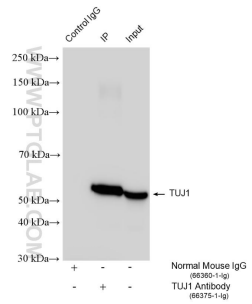
Incubation buffer	配制： 1000 mL
KCl	0.2 g
KH_2PO_4	0.2 g
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	1.14 g
NaCl	8 g
NaF	0.42 g
EDTA.2Na.$2H_2O$	1.86 g
1 M NaOH调pH至7.4，补ddH_2O定容至1000 mL，4°C保存	

Washing buffer (1 x TBST）	配制： 1000 mL
Tris	2.42 g
NaCl	8.76 g
KCl	0.373 g
Tween-20	2 mL
盐酸调pH至7.4，补ddH_2O定容至1000 mL	

洗脱液 (Elution buffer)	配制： 500 mL
NaCl	14.6 g
Glycine	5.625 g
调pH至1.5-2.0，补ddH_2O定容至500 mL，4°C保存	

碱中和液 (Alkali neutralization buffer)	
NaOH溶液	0.9 M~1.3 M
The final concentration is adjusted addcording to Elution buffer	

Validation Data



IP result of anti-TUJ1 (IP: 66375-1-Ig, 4 ug; Detection: 66375-1-Ig 1:10000) with SH-SY5Y cells lysate 1240 ug.