碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线：400-168-3301或800-8283301
订货e-mail：order@beyotime.com
技术咨询：info@beyotime.com
网址：http://www.beyotime.com

碧云天网站 微信公众号

Protein G Agarose (Fast Flow, 进口分装)

产品编号	产品名称	包装
P2009	Protein G Agarose (Fast Flow, 进口分装)	2ml

产品简介：

- 本Protein G Agarose (Fast Flow)为进口分装，主要用于免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)或免疫共沉淀(Co-IP)，也可以用于抗体的纯化。
- Protein G Agarose适合于免疫沉淀mouse IgG_1, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG_3, rat IgG_1, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG_{2c}, rabbit and goat polyclonal Abs, 以及human IgG_1, IgG_2, IgG_3和IgG_4。
- Protein G共价交联到4% agarose beads (Fast Flow)上，2ml Protein G Agarose中共含有约2mg重组的Protein G。2 ml Protein G Agarose共可以结合约11mg human IgG。推荐的线性流速(Linear flow rate)为 50-300cm/h。
- Protein G Agarose配制在TBS溶液中，2ml中共含有0.5ml Agarose beads。
- 本Protein G Agarose如果用于常规的免疫沉淀，可以免疫沉淀100次。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P2009	Protein G Agarose (Fast Flow, 进口分装)	1ml×2
—	说明书	1份

保存条件：

4ºC保存，一年有效。

注意事项：

- 请勿冷冻保存本产品。
- Protein G Agarose使用前一定要充分重悬，即充分颠倒若干次使混合均匀。
- 从蛋白样品收集开始，所有步骤中蛋白样品都必须在4ºC或冰上操作。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)：

a. 蛋白样品的准备：

(a) 对于10厘米细胞培养皿中的贴壁细胞，吸除细胞培养液，PBS洗涤一次，然后加入500微升至2毫升细胞裂解液裂解细胞。可以使用碧云天生产的Western及IP细胞裂解液(P0013)或各种RIPA裂解液(P0013B、P0013C、P0013D或P0013E)等进行细胞的裂解。

(b) 对于组织样品参考贴壁细胞使用裂解液的比例进行裂解。

(c) 对于悬浮细胞，离心收集细胞后，PBS洗涤一次，然后参考贴壁细胞的裂解方法进行裂解。

注：详细的裂解方法参考不同裂解液的详细使用方法。对于不同的培养器材，参考10厘米培养皿的裂解液的用量进行裂解。如果裂解获得的蛋白样品浓度过高，可以用裂解液或PBS适当稀释，如果蛋白样品浓度过低，在以后的裂解过程中宜适当减少裂解液的用量。

b. 去除非特异性结合(**可选做**)：

(a) 取200微升至1毫升蛋白样品，蛋白量约为200微克至1毫克，加入约1微克和免疫沉淀时使用的IgG种属相同的普通IgG和20微升充分重悬的Protein G Agarose，4ºC缓慢摇动30分钟至2小时。

(b) 2500rpm(约1000g)离心5分钟，取上清用于后续的免疫沉淀。

注：所谓种属相同的IgG是指，例如后续免疫沉淀时用的是小鼠IgG，则在本步骤中可以加入normal mouse IgG，如无normal IgG可以加入其它不影响后续检测的其它mouse IgG类型的抗体。通过和normal IgG和Protein G Agarose的孵育，可以充分降低非特异性的结合，降低背景。

c. 免疫沉淀：

(a) 加入0.2-2微克用于免疫沉淀的一抗，4ºC缓慢摇动过夜。

(b) 再加入20微升充分重悬的Protein G Agarose，4ºC缓慢摇动1-3个小时。(为方便后续的洗涤操作可以把加入充分重悬的Protein G Agarose的量调整为40微升。)

(c) 2500rpm(约1000g)离心5分钟，或瞬时高速离心，小心吸除上清，注意宁可留下少量上清也不能吸掉Protein G Agarose。
(d) 用准备蛋白样品时的裂解液或PBS洗涤沉淀5次，裂解液或PBS的用量每次为0.5-1毫升。洗涤时离心条件和吸除上清的要求同上面的步骤c(c)。
(e) 完成最后一次洗涤后，去除上清，加入20-40微升1XSDS-PAGE电泳上样缓冲液Vortex重悬沉淀，瞬时高速离心把样品离心至管底。
(f) 100ºC或沸水浴处理3-5分钟，取部分或全部样品用于SDS-PAGE电泳，暂时不用的样品可以-20ºC保存。

2. 免疫共沉淀：

参考免疫沉淀的方法进行，但免疫共沉淀(co-IP)通常必须使用未经冻存的新鲜蛋白样品。普通的免疫沉淀虽然可以使用冻存的蛋白样品，但也宜用新鲜的蛋白样品为佳。

3. 抗体纯化：

a. 准备工作：
(a) 用0.45微米或0.2微米孔径的滤膜过滤所用的溶液。
(b) 所有的溶液必须用超声等方法脱气(degas)。
(c) 选择适当的纯化柱，用适当量的Protein G Agarose装填纯化柱。
(d) 用10-20倍柱体积的TBS洗涤并平衡纯化柱，流速可以用恒流泵控制为1ml/min。如无恒流泵，也可以完全依靠重力洗涤并平衡纯化柱。

b. 抗体纯化：
(a) 把含有待纯化的抗体上样到纯化柱。
(b) 待纯化的抗体过柱后，用10-20倍柱体积的TBS洗涤，以去除未结合和非特异性结合的蛋白。洗涤是否完全可以通过测定280nm的吸光度进行确定。
(c) 洗涤完后，用10ml 50mM glycine， pH2.7作为洗脱液，洗脱结合的抗体。某些抗体和Protein G的结合能力很强，在pH2.7时洗脱效果不太理想，可以使用50mM glycine， pH1.9作为洗脱液。分管收集洗脱下的抗体，根据蛋白浓度或后续的检测效果确定洗脱峰在哪几个收集管中。

c. 纯化柱的再生：
(a) 用10-20倍柱体积的TBS洗涤纯化柱，使纯化柱达到中性的pH。
(b) 用TBS来保存再生的纯化柱。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2006	Protein A Agarose (Fast Flow, 进口分装)	2ml
P2009	Protein G Agarose (Fast Flow, 进口分装)	2ml
P2012	Protein A+G Agarose (Fast Flow, 进口分装)	2ml

使用本产品的文献：

1. Guo M, Huang T, Cui Y, Pan B, Shen A, Sun Y, Yi Y, Wang Y, Xiao G, Sun G. PrPC interacts with tetraspanin-7 through bovine PrP154-182 containing alpha-helix 1. Biochem Biophys Res Commun. 2008 Jan 4;365(1):154-7.
2. Zhu CG, Deng XY, Shi F. Rapid detection of brucella abortus by a novel proximity ligation-based loop-mediated isothermal amplification methodJournal of Rapid Methods & Automation in Microbiology. 2009 Jun;17(2):154-63.
3. Liu M, Wang X, Lei L, Zhao Z, Shen J. The identification, expression profile, and preliminary characterization of Tsunagi protein from Schistosoma japonicum. Parasitol Res. 2010 Aug;107(3):615-21.
4. Zhou ZL, Luo ZG, Yu B, Jiang Y, Chen Y, Feng JM, Dai M, Tong LJ, Li Z, Li YC, Ding J, Miao ZH. Increased accumulation of hypoxia-inducible factor-1α with reduced transcriptional activity mediates the antitumor effect of triptolide. Mol Cancer. 2010 Oct 11;9:268.
5. Liu XG, Ma SH, Sun JZ, Ren J, Shi Y, Sun L, Dong XY, Qin P, Guo CS, Hou M, Peng J. High-dose dexamethasone shifts the balance of stimulatory and inhibitory Fcgamma receptors onmonocytes in patients with primary immune thrombocy topenia. Blood. 2011 Feb 10; 117(6):2061-9.
6. Jia Y, Cong R, Li R, Yang X, Sun Q, Parvizi N, Zhao R. Maternal Low-Protein Diet Induces Gender-Dependent Changes in Epigenetic Regulation of theGlucose-6-Phosphatase Gene in Newborn Piglet Liver. J Nutr. 2012 Sep; 142(9):1659-65.
7. Huai J, Zhang Y, Liu QM, Ge HY, Arendt-Nielsen L, Jiang H, Yue SW. Interaction of transient receptor potential vanilloid 4 with annexin A2 and tubulin beta 5. Neurosci Lett. 2012 Mar 14;512(1):22-7.
8. Han M, Deng HY, Jiang R. Effect of Trastuzumab on Notch-1 Signaling Pathway in Breast Cancer SK-BR3 Cells. Chin J Cancer Res. 2012 Sep;24(3):213-9.
9. Guo Z, Song E, Ma S, Wang X, Gao S, Shao C, Hu S, Jia L, Tian R, Xu T, Gao Y. Proteomics strategy to identify substrates of LNX, a PDZ domain-containing E3 ubiquitin ligase. J Proteome Res. 2012 Oct 5; 11(10):4847-62.
10. Ren J, Li D, Li Y, Lan X, Zheng J, Wang X, Ma J, Lu S. HDAC3 interacts with sumoylated C/EBPα to negatively regulate the LXRα expression in rat hepatocytes. Mol Cell Endocrinol. 2013 Jul 15;374(1-2):35-45.
11. Tang S, Bai C, Yang P, Chen X. 14-3-3ε Boosts Bleomycin-induced DNA Damage Response by Inhibiting the Drug-resistant Activity of MVP. J Proteome Res. 2013 Jun 7;12(6):2511-24.
12. Chen C, Chi H, Sun BG, Sun L. The galectin-3-binding protein of Cynoglossus semilaevis is a secreted protein of the innate immune system that binds a wide range of bacteria and is involved in host phagocytosis. Dev Comp Immunol. 2013 Apr;39(4):399-408.
13. Guo Z, Wang X, Li H, Gao Y. Screening E3 substrates using a live phage display library.PLoS One. 2013 Oct 4;8(10):e76622.
14. Kan J, Guo W, Huang C, Bao G, Zhu Y, Zhu YZ. S-propargyl-cysteine, a novel water-soluble modulator of endogenous hydrogen sulfide, promotes angiogenesis through activation of signal transducer and activator of transcription 3.Antioxid Redox Signal. 2014 May 20; 20(15):2303-16.
15. Zhu Z, Liu Y, Li K, Liu J, Wang H, Sun B, Xiong Z, Jiang H, Zheng J, Hu Z. Protein tyrosine phosphatase receptor U (PTPRU) is required for glioma growth and motility. Carcinogenesis. 2014 Aug;35(8):1901-10.
16. Liu Y, Zhu Z, Xiong Z, Zheng J, Hu Z, Qiu J. Knockdown of protein tyrosine phosphatase receptor U inhibits growth and motility of gastric cancer cells. Int J Clin Exp Pathol. 2014 Aug 15;7(9):5750-61.
17. Wang J, Bao W, Qiu M, Liao Y, Che Q, Yang T, He X, Qiu H, Wan X. Forkhead-box A1 suppresses the progression of endometrial cancer via crosstalk with estrogen receptor α. Oncol Rep. 2014 Mar;31(3):1225-34.
18. Li L, Gao P, Li Y, Shen Y, Xie J, Sun D, Xue A, Zhao Z, Xu Z, Zhang M, Li B, Jiang J. JMJD2A-dependent silencing of Sp1 in advanced breast cancer promotes metastasis by downregulation of DIRAS3. BreastCancer Res Treat. 2014 Oct; 147(3):487-500.
19. Hou N, Ren L, Gong M, Bi Y, Gu Y, Dong Z, Liu Y, Chen J, Li T. Vitamin A Deficiency Impairs Spatial Learning and Memory: The Mechanism of Abnormal CBP-Dependent Histone Acetylation Regulated by Retinoic Acid Receptor Alpha. Mol Neurobiol. 2015 Apr;51(2):633-47.
20. Li Q, Liu G, Shao D, Wang J, Yuan H, Chen T, Zhai R, Ni W, Tai G. Mucin1 mediates autocrine transforming growth factor beta signaling through activating the c-Jun N-terminal kinase/activator protein 1 pathway in human hepatocellular carcinoma cells. Int J Biochem Cell Biol. 2015 Feb;59:116-25.
21. Qi J, Xia G, Huang CR, Wang JX, Zhang J. JSI-124 (Cucurbitacin I) inhibits tumor angiogenesis of human breast cancer through reduction of STAT3 phosphorylation. Am J Chin Med. 2015;43(2):337-47.

22. Jiang Q, Liu Z, Zhou Z, Wang L, Wang L, Yue F, Wang J, Wang H, Song L. Transcriptional activation and translocation of ancient NOS during immune response. FASEB J. 2016 Oct;30(10):3527-3540.

23. Wang Y, Fang R, Yuan Y, Pan M, Hu M, Zhou Y, Shen B, Zhao J. Identification of host proteins, Spata3 and Dkk2, interacting with Toxoplasma gondii micronemal protein MIC3. Parasitol Res. 2016 Jul;115(7):2825-35.

24. Liu X, Huang T, Chen X, Yan M, Yu F, Gu H, He C, Gu J. Immunoglobulin G promotes skin graft acceptance in an immunologically potent rat model. Oncotarget. 2016 Jun 28;7(26):39408-39420.

25. Xue J, Jiang W, Chen Y, Liu Y, Zhang H, Xiao Y, Qiao Y, Huang K, Wang Q. Twenty-six circulating antigens and two novel diagnostic candidate molecules identified in the serum ofcanines with experimental acute toxoplasmosis. Parasit Vectors. 2016 Jun 29;9(1):374.

26. Zhu Y, Wei W, Ye T, Liu Z, Liu L, Luo Y, Zhang L, Gao C, Wang N, Yu L. Small Molecule TH-39 Potentially Targets Hec1/Nek2 Interaction and Exhibits Antitumor Efficacy in K562Cells via G0/G1 Cell Cycle Arrest and Apoptosis Induction. Cell Physiol Biochem. 2016;40(1-2):297-308.

27. He Y, Lu L, Wei X, Jin D, Qian T, Yu A, Sun J, Cui J, Yang Z. The multimerization and secretion of adiponectin are regulated by TNF-alpha. Endocrine. 2016 Mar;51(3):456-68.

28. Wang LQ, Liu JC, Chen CL, Cheng SF, Sun XF, Zhao Y, Yin S, Hou ZM, Pan B, Ding C, Shen W, Zhang XF. Regulation of primordial follicle recruitment by cross-talk between the Notch and phosphatase and tensinhomologue (PTEN)/AKT pathways. Reprod Fertil Dev. 2016 Apr;28(6):700-12.

29. Zhou A, Li S, Khan FA, Zhang S. Autophagy postpones apoptotic cell death in PRRSV infection through Bad-Beclin1 interaction. Virulence. 2016;7(2):98-109.

30. Zhang T, Zhao L, Zeng S, Bai L, Chen J, Zhang Z, Wang Y, Duan C. UHRF2 decreases H3K9ac expression by interacting with it through the PHD and SRA/YDG domain in HepG2 hepatocellular carcinoma cells. Int J Mol Med. 2017 Jan;39(1):126-134.

Version 2017.09.28