



Protein A Agarose Beads

Protein A琼脂糖亲和介质

版本号: V220101

货号: G101

保存: 4°C, 切勿冻结!

运输: 常温

货号	规格
G101-01	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 A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介质可结合10-20 mg蛋白。免疫沉淀实验中, 仅需取10-20 μ l介质与抗体混合液孵育。

【产品组分】

组分	G101-01
Protein A Agarose Beads	1 ml

储存缓冲液: 含20%乙醇的1 \times 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 \times 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 A Agarose)。
2. 介质平衡: 取适量 Protein A Agarose 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 \times g)离心或采用0.45 μ 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。

免疫共沉淀(以1 \times 10⁷个细胞为例)

1. 介质准备: 取100 μ l Protein A Agarose, 用1 ml 1 \times PBS清洗两遍, 重悬于PBS中(含50% Protein A 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 \times 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 μ l Protein A Agarose 重悬液(相当于20 μ l Protein A Agarose), 4°C 旋转摇床混匀孵育30-60 min。4°C 500 \times 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 μ 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 μ l Protein A Agarose 重悬液(相当于20 μ l Protein A Agarose), 4°C混匀孵育2 h或过夜。
6. 介质洗涤: 4°C 500 \times g离心5 min, 去除上清; 用800 μ l PBS重悬洗涤 Protein A Agarose 介质, 重复3次。
7. 结果检测: 加入20-40 μ l 1 \times SDS-PAGE 上样缓冲液重悬 Protein A Agarose 介质; 煮沸5 min后, 500 \times 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 A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。