



Protein A/G Agarose Beads

蛋白A/G琼脂糖亲和介质

版本号: V220101

货号: G103

保存: 4°C, 切勿冻结!

运输: 常温

货号	规格
G103-01	1 ml

【产品概述】

本产品由结合了蛋白 A 和蛋白 G 的 4% 浓度的交联珠状琼脂糖介质等体积混合而成。由于采用了重组表达的高纯度蛋白 A 和蛋白 G, 并去除了其白蛋白结合区, 该介质能够特异性地结合多种免疫球蛋白的 Fc 段, 作为亲和吸附剂, 可用来纯化不同来源的抗体和抗体亚型, 以及在免疫共沉实验中捕获免疫复合物, 特别适合从样品中提取亚型不明确的抗体, 节省摸索纯化条件所耗费的时间和材料。本产品具有高特异性、高吸附力、广谱结合力等特点。每 ml 基质可特异性结合 10-20 mg 抗体。

【产品组分】

组分	规格
Protein A/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)

【储存条件】

4°C 保存, 保质期 24 个月; 常温 (15-25°C) 运输; **切勿冻结!**

【使用方法】

可以采用柱层析或批次模式操作;

结合前先用 1×PBS 充分洗涤介质, 完全去除乙醇。

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 A/G Agarose)。
2. 介质平衡: 取适量 Protein A/G Agarose 悬液, 装入层析柱, 用 3-5 倍体积的 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 μm 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, 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 1×10^7 个细胞为例)

1. 介质准备: 取 100 μl Protein A/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: 细胞或组织用适合的裂解液 (如 RIPA 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 裂解液加入 40 μl Protein A/G Agarose 重悬液 (相当于 20 μl Protein A/G Agarose), 4°C 混匀孵育 10 min。高速离心, 转移上清至新离心管中。
4. 抗体孵育: 加入适量 (0.5-2 μg) 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 μl Protein A/G Agarose 重悬液 (相当于 20 μl Protein A/G Agarose), 4°C 混匀孵育 1 h 或过夜。
6. 介质洗涤: 高速离心 5 s, 去除上清; 用 800 μl RIPA 或 PBS 重悬洗涤 Protein A/G Agarose 介质, 重复 3 次。
7. 结果检测: 加入 20-40 μl 1×SDS-PAGE 上样缓冲液重悬 Protein A/G Agarose 介质; 煮沸 5 min 后, 高速离心, 取适量上清上样电泳。



附表 1. Protein A 和 Protein G 对各型抗体的相对结合力比较

种属、亚型	Protein A	Protein G	种属、亚型	Protein A	Protein G	种属、亚型	Protein A	Protein G
Human IgG1	++++	++++	Mouse IgG2b	+++	+++	Chicken Ig	-	+
Human IgG2	++++	++++	Mouse IgG3	++	+++	Hamster Ig	+	++
Human IgG3	-	++++	Mouse IgM	+/-	-	Guinea Pig Ig	++++	++
Human IgG4	++++	++++	Rat IgG1	-	+	Bovine Ig	++	++++
Human IgA	++	-	Rat IgG2a	-	++++	Horse	++	++++
Human IgD	++	-	Rat IgG2b	-	++	Cow	++	++++
Human IgE	++	-	Rat IgG2c	+	++	Pig	+++	+++
Human IgM	++	-	Rat IgM	+/-	-	Sheep	+/-	++
Mouse IgG1	+	++++	Rabbit Ig	++++	+++	Goat	-	++
Mouse IgG2a	++++	++++						

【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。