



蛋白A琼脂糖亲和基质

(Protein A-Agarose Matrix)

产品说明:

本试剂是结合原核重组表达蛋白A的4%浓度的交联珠状琼脂糖基质，可用于结合和分离纯化免疫球蛋白及其复合物，如从血清或其他体液中纯化抗体，免疫沉淀实验等。

产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
Protein A-Agarose	1 ml	4°C

试剂瓶含有1 ml亲和基质悬液(50%)，保存于1x PBS中，含有20%乙醇作防腐剂。常温运输，4°C保存（切勿冻结）。有效期一年。

操作注意事项:

可以采用柱层析法或批次法操作。

- 1) 结合前先用PBS充分洗涤基质，完全去除乙醇。
- 2) 每ml基质可结合10~20毫克蛋白。
- 3) 免疫沉淀实验中，仅需取10~20 μ l基质与抗体混合液孵育。

免疫沉淀实验流程:

- 1) 细胞或组织用RIPA或其他适合的裂解液充分裂解，高速离心，收取上清。
- 2) 取适量Protein A Agarose悬液，用PBS清洗两遍，重悬于PBS中（含50%基质）。
- 3) 0.5 ml裂解液中加入40 μ l Protein A Agarose 悬液(20 μ l基质)，4°C混匀孵育10 min，高速离心，转移上清至新离心管中。
- 4) 加入适量抗体至经过预结合的上清中，4°C混匀孵育2 h。
- 5) 0.5 ml 含抗体上清中加入40 μ l Protein A Agarose 悬液(20 μ l基质)，4°C混匀孵育1 h或过夜。
- 6) 高速离心5 sec，去除上清，用800 μ l RIPA或PBS重悬洗涤Protein A Agarose基质，重复3次。
- 7) 加入20~40 μ l上样液重悬Protein A Agarose基质，煮沸5 min后，高速离心，取适量上清上样电泳。

抗体纯化实验流程:

- 1) 取适量Protein A Agarose悬液，装入层析柱，用3~5倍体积的100 mM Tris, pH8.0洗涤平衡。
- 2) 含抗体的血清或腹水高速离心，上清缓慢加入层析柱。
- 3) 用5~10倍体积的100 mM Tris, pH8.0洗涤，再用5~10倍体积的10 mM Tris, pH8.0洗涤，至流出液无蛋白检出。
- 4) 用100 mM Glycine, pH3.0洗脱，获得的纯化抗体加入1/5体积1M Tris, pH8.0中和。

附录：蛋白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	++