



Protein A 琼脂糖凝胶

产品描述

Protein A 琼脂糖通常用于从血清、细胞培养上清或腹水中分离抗体，以及从细胞或组织提取物中分离抗原进行免疫沉淀和免疫共沉淀。

蛋白 A 琼脂糖偶联高质量的重组蛋白 A，它可以结合抗体的 IgG 结合域。重组蛋白 A 含有 5 个的 Fc 结合结构域，这些结构域可以与许多不同物种的抗体结合，包括小鼠、人、兔、猪、狗和猫。

订购信息

产品名称	货号	规格
Protein A 琼脂糖凝胶	AP64L213	1 mL

运输与保存

常温运输。4°C 保存，有效期 24 个月。

技术参数

介质	4%高度交联的琼脂糖微球
大小	30-100um
浓度	25%
结合力	≥ 6 mg human IgG/mL of beads
适用范围	IP, CoIP, ChIP

使用方法

悬浮细胞样品

- 4°C、500-1000 g、10 min，收集细胞，弃上清。
- 用 PBS 洗细胞一次，即用 PBS 将细胞团重悬，4°C、500-1000 g、10 min，收集细胞，弃上清。
- 用预冷的 IP Lysis/Wash Buffer 重悬细胞。每 50mg 细胞使用 500μL IP Lysis/Wash Buffer。同时加入 PMSF 等相应的抑制剂，混匀后置于冰上静置 5-20 min（期间混匀几次）。
- 4°C, 12000-16000 g, 10 min 离心收集上清液，置于冰上以备后续实验（或置于 -80°C 长期保存）。

血清样品

一般建议建议用 IP Lysis/Wash Buffer 稀释血清样品至目标蛋白终浓度为 50~150 μg/mL，置于冰上备用（或置于 -20°C 长期保存）。

免疫复合物的制备

【注】：样品所需的量和孵育时间均依赖于每个特定的抗体-抗原体系，因而可能需要优化才能得到最大产量。

以下实验方案针对 2-10μg 亲和纯化的抗体，根据需要可以按比例放大。

- 在离心管中，将每个样品的细胞裂解液与 2-10μg 免疫沉淀抗体结合。每个免疫沉淀反应推荐的总蛋白量为 500-1500μg。
- 用 IP Lysis/Wash Buffer 将抗体以及制备好的样品稀释至 300-500μL。
- 在室温下孵育 1-2 h，或 4°C 过夜，以形成免疫复合物。

免疫沉淀

【注】：为保证微球均匀分布，使用前通过反复颠倒或轻微涡旋混匀瓶中微球。



1. 将 25 μ L Protein A 琼脂糖加入 1.5 mL 离心管中。
2. 向离心管中加入 500 μ L 预冷 PBS, 轻柔混匀。
3. 然后 4°C、1000g 离心 5min, 去除上清。
4. 向离心管中加入 200-500 μ L IP Lysis/Wash Buffer。颠倒离心管数次或轻微涡旋混匀 1min。4°C、1000g 离心 5min, 去除上清。
5. 将抗原样品/抗体混合物加入装有 Protein A 琼脂糖的离心管中, 保持混匀室温下孵育 1-2 h, 或 4°C 过夜。
6. 4°C、1000g 离心 5min, 除去未结合的样品, 保存以备分析。
7. 向离心管中加入 500 μ L IP Lysis/Wash Buffer, 轻柔混匀。4°C、1000g 离心 5 min 收集琼脂糖, 弃上清。再重复洗两次。
8. 向离心管中加入 80-100 μ L SDS-PAGE Sample Loading Buffer (1 $\times$), 将样品置于 100°C 水浴或者金属浴中加热 10 min。离心后, 保留含有目的抗原的上清。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 请勿高速离心、干燥或冷冻磁珠, 这些操作会导致微球聚集而降低结合能力。
3. IP 实验中不同类型的抗体与抗原结合的亲和性是有区别的, 抗体与抗原结合还会受到 IP Lysis/Wash Buffer 的影响, 因此, 如使用本实验步骤不能获得最佳的实验结果, 可自行优化操作细节或者筛选及配制缓冲液进行实验, 推荐使用李记生物的相关产品, 参照相关产品推荐。
4. 琼脂糖使用前应充分振荡均匀。琼脂糖应保存在储存溶液中, 防止干燥。

附录: 蛋白 A 与不同种类的 Ig, s 及其亚类的结合强度

Species	Antibody Subtype	Protein A	Species	Antibody Subtype	Protein A	Species	Antibody Subtype	Protein A
Human	Total IgG	+++++	Mouse	Total IgG	+++++	Cow	Total IgG	+++
	IgG1, IgG2	+++++		IgM	-		IgG1, IgG2	+++
	IgG3	-		IgG1	+	Goat	Total IgG	+++
	IgG4	+++++		IgG2a, IgG2b	+++		IgG1, IgG2	+++
	IgM	+	Rat	IgG3	+++	Sheep	Total IgG	+++++
	IgD	-		Total IgG	+++		IgG1, IgG2	+++++
	IgA	+		IgG1	+	Horse	Total IgG	+++++
	IgA1, IgA2	+		IgG2a	+		IgG(ab), IgG(c)	+
	IgE	+++		IgG2b	+		IgG(T)	+
	Fab	+		IgG2c	+++++	Monkey	Total IgG	+++
	ScFv	+	Pig	Total IgG	+++++	Chicken	Total IgG	-
Rabbit	Total IgG	+++++	Donkey	Total IgG	+++	Notes:	+ weak binding	+++ medium binding
Guinea Pig	Total IgG	+++	Cat	Total IgG	+++++		+++++ strong binding	- no binding
Hamster	Total IgG	+++	Dog	Total IgG	+++++			