

# Biolinkedin® Protein A/G Plus 琼脂糖凝胶

## 包装清单

名称	货号	包装
Protein A/G Plus 琼脂糖凝胶	L-2204	2mL (1mL 实体积)
	L-2204A	10mL (5mL 实体积)
	L-2204B	25mL (12.5mL 实体积)

## 产品概述

Biolinkedin® Protein A/G Plus 琼脂糖凝胶是以自制的琼脂糖凝胶为介质，以重组 Protein A/G 蛋白为配体，具有很高的物理化学稳定性，配基不易脱落，寿命长，使用方便。重组 Protein A/G 蛋白包含 Protein A 的 5 个 IgG 结合区域和 Protein G 的 2 个 IgG 结合区域，结合能力较单一的 Protein A 和 Protein G 有很大提高。

该产品具有更高的抗体结合能力和较低的蛋白非特异吸附率，洗脱条件均一，一步纯化即可从血清样品中分离出纯度大于 90% 的抗体。本产品适用于血浆、腹水、组织培养上清液等样品中的抗体纯化，也可用于免疫沉淀及其它相关研究。

## 产品特性

基质	4%高度交联的琼脂糖凝胶 (4FF)
配体	重组 Protein A/G 蛋白
平均粒径	30~100 $\mu$ m
浓度	凝胶体积占悬浮液体积的 50%
抗体结合能力	>60mg Human IgG/mL 凝胶
耐压	0.5MPa
pH 稳定性	3~12 (工作) 2~14 (CIP)
化学稳定性	常见水相溶液：10mM HCl、0.1M 柠檬酸 (pH3)、6M 尿素、6M 盐酸胍、30%异丙醇、20%乙醇
保质期	在 2~8°C 稳定保存两年

## 操作流程

(以纯化人血清 IgG 为例)

### 推荐缓冲液：

Binding/Washing buffer	0.15M NaCl, 20 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , pH 7.0
Elution buffer	100 mM Gly, pH 3.0
Neutrilization buffer	1.0 M Tris-HCl, pH 8.5

## 1. 样品准备

上样之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，用 **Binding/Washing buffer** 对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者将样品置于 **Binding/Washing buffer** 透析。样品在上样前建议离心并用 0.22 $\mu$ m 或 0.45 $\mu$ m 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率。

## 2. 凝胶装填

- 1) 取合适规格的亲和层析柱，装入垫片，加入适量去离子水润洗柱管和垫片，关闭下出口。
- 2) 将 **Protein A/G Plus 琼脂糖凝胶** 混合均匀，用移液器吸取适量浆液加入至层析柱中（凝胶实际体积占悬液的一半），打开下出口流出保护液。
- 3) 加入适量去离子水冲洗凝胶，待柱中液体流出后，关闭下出口。
- 4) 装填好的层析柱加入 **Binding/Washing buffer** 进行平衡，暂不使用时则加入保护液，2~8°C 保存。

## 3. 样品纯化

### 3.1 孵育法纯化

- 1) 根据纯化的样品量，取适量 **Protein A/G Plus 琼脂糖凝胶** 加入离心管中，1000rpm 离心 1min，去除上清；
- 2) 向离心管中加入 5 倍凝胶体积的 **Binding/Washing buffer** 清洗凝胶，1000rpm 离心 1min，去除上清，重复 2 次以上。
- 3) 加入样品，置于旋转混匀仪，2~8°C 孵育 2~4h 或者过夜孵育。
- 4) 孵育结束后，1000rpm 离心 1min，吸取上清至新离心管，上清保留作为流穿，用于电泳鉴定。
- 5) 用 5 倍凝胶体积的 **Binding/Washing buffer** 清洗凝胶，1000rpm 离心 1min，去除上清（注意不要吸到凝胶），重复 3~5 次，中间建议更换新离心管。
- 6) 加入 3~5 倍凝胶体积的 **Elution buffer** 进行洗脱，室温孵育 5~15min，1000rpm 离心 1min 收集洗脱液，可重复 2~3 次。洗脱液需要立即调成中性，一般建议使用洗脱组分体积 1/10 的 **Neutrilization buffer** 进行中和。

### 3.2 层析柱法纯化

溶液用量按柱体积计算（例如 5 倍柱体积，1mL 规格对应为 5mL 溶液，10mL 规格对应为 50mL 溶液）。

- 1) 将装填好的 **Protein A/G Plus 琼脂糖凝胶** 层析柱用 5 倍柱体积 **Binding/Washing buffer** 进行平衡，使凝胶处于与目的蛋白相同的缓冲液体系下，重复 2~3 次。
- 2) 将样品加到平衡好的层析柱中，置于旋转混匀仪孵育 30~60min 后，收集流出液，可以反复上样增加结合效率。
- 3) 用 10~15 倍柱体积的 **Binding/Washing buffer** 进行洗杂，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 4) 使用 5~10 倍柱体积的 **Elution buffer** 洗脱，分段收集，每一个柱体积收集一管，分别检测，既可以保证所有结合的目的蛋白被洗脱，又可以得到高纯度和高浓度的抗体。洗脱组分需要立即调成中性，一般建议使用洗脱组分体积 1/10 的 **Neutrization buffer** 进行中和。

### 3.3 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流穿组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

### 4. 凝胶清洗

**Protein A/G Plus 琼脂糖凝胶** 可以重复使用而无需再生，但随着一些变性物质的沉淀和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，严重影响柱子的性能，这时需要对凝胶进行清洗。

#### 去除一些沉淀或变性物质

用 2 倍柱体积的 6M 盐酸胍溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS (pH 7.4) 清洗。

#### 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3~4 倍柱体积的 70%乙醇或 2 倍柱体积的 1% Triton X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS (pH 7.4) 清洗。

### 注意事项

1. 进行实验操作之前，请务必认真阅读本操作说明书。
2. 琼脂糖凝胶使用前应充分混合均匀。凝胶应保存在储存溶液中，防止干燥。
3. 本产品仅供科学研究使用。

### 相关产品

货号	产品名称
L-2201	Protein A Plus 琼脂糖凝胶
L-2202	Protein G Plus 琼脂糖凝胶
L-2203	Protein L Plus 琼脂糖凝胶
<b>L-2204</b>	<b>Protein A/G Plus 琼脂糖凝胶</b>
L-2205	耐碱 Protein A 琼脂糖凝胶