

## 蛋白 A/G 琼脂糖凝胶层析柱

名称：蛋白 A/G 琼脂糖凝胶层析柱（PAG-琼脂糖凝胶层析柱）

英文名称：Protein AG Agarose Column

目录号：QYP1012

规格：1ml, 2ml

储存形式：预装柱

保护液：20%乙醇-PBS

储存温度：4℃

### 产品介绍

蛋白 A/G 琼脂糖凝胶（PAG-琼脂糖凝胶）是重组蛋白 A 蛋白 G 融合蛋白（r-PAG）与琼脂糖凝胶微球（Agarose）偶联，制备的抗体纯化（亲和层析）介质。与单独的蛋白 A 或蛋白 G 琼脂糖凝胶相比，本品具有更广泛的结合范围，可以与人类、小鼠、大鼠、兔等多物种各亚型 IgG 结合。本品适用于抗体纯化，包括人类 IgG，小鼠 IgG，兔 IgG 单抗和多抗的纯化。本品结构稳定，结合 IgG 效率高，对纯化体系 pH 值要求不严格，允许在 pH5.0-8.0 之间进行结合。

### 产品性能

性能	指标
基质	6%琼脂糖微球
配基	蛋白 A/G 融合蛋白
配基密度	≥6mg PAG/ml 琼脂糖微球
载量	7-10mg IgG/ml 琼脂糖微球
粒径	45-165 μ m
推荐流速/最大流速	100/750 cm/h
pH 稳定范围-工作/清洗	3~9/2~10
储存缓冲液	20%乙醇
储存温度	4℃
保质期	1 年

## 实验例

**实验名称：PAG-agarose 纯化抗体**

### 试剂及耗材准备：

平衡缓冲液：1×PBS, pH7.4

洗涤缓冲液：20mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 150mM NaCl, 2mM EDTA, pH7.4

洗脱缓冲液：100mM Glycine, pH2.7

中和缓冲液：1M Tris-HCl, pH9.0

每 5-10ml 血清或腹水采用 1ml PAG-agarose 进行纯化。细胞上清中抗体浓度较低，建议盐析浓缩抗体，并使用 PBS 透析之后再进行过柱纯化。上柱之前，应尽可能使样本澄清。腹水中杂质较多，推荐在 10000g, 4℃离心 20min，弃去沉淀。用滤纸过滤，再用 0.44um 滤器过滤，之后上柱。

如不过滤样本，直接上柱，样本中的杂质容易堵柱子，使实验时间延长，抗体纯度和产率降低。

## 实验方案

**以 10ml 血清使用 1ml PAG-agarose 柱子纯化为例**

1. 拔下 PAG-琼脂糖凝胶柱上下盖，弃去柱内液体。
2. 用 10ml 平衡液洗柱子。
3. 将预先处理过的血清上柱。用 50ml 离心管接住血清上柱流穿液，重复上柱，共上柱 3 次。
4. 用 10ml 洗涤液洗柱子。
5. 取 7 个 1.5ml 离心管，每管加入 100ul 中和液。
6. 加入 10ml 洗脱液洗脱抗体。将样本收集到上述 EP 管中，每管收集 900ul，总体积 1ml。
7. 洗脱液自然流出后，用 10ml 平衡液洗柱子。
8. 使用后的柱子应加入 20%乙醇/PBS，盖上上下盖，直立保存在 4℃。
9. 洗脱下来的抗体，立刻使用 PBS 在 4℃透析。如不立刻进行透析，需-20℃冻存。请勿将抗体存放于洗脱液中长期保存在 4℃。有部分抗体可能会产生沉淀。
10. 纯化好的抗体可用 BCA 蛋白定量试剂盒和 SDS-PAGE 电泳鉴定其浓度和纯度。

备注：应使用每根 PAG-agarose 柱子纯化一种抗体，每根柱子可反复使用 8-10 次。不建议使用同一根柱子纯化不同种类的抗体，以免抗体互相混淆，影响实验结果。通常情况下，10ml 小鼠腹水可获得 5-15mg 鼠单抗，10ml 兔血清可获得 10-20mg 兔多抗。不同种属和指标的抗体，其产率和浓度不同。