

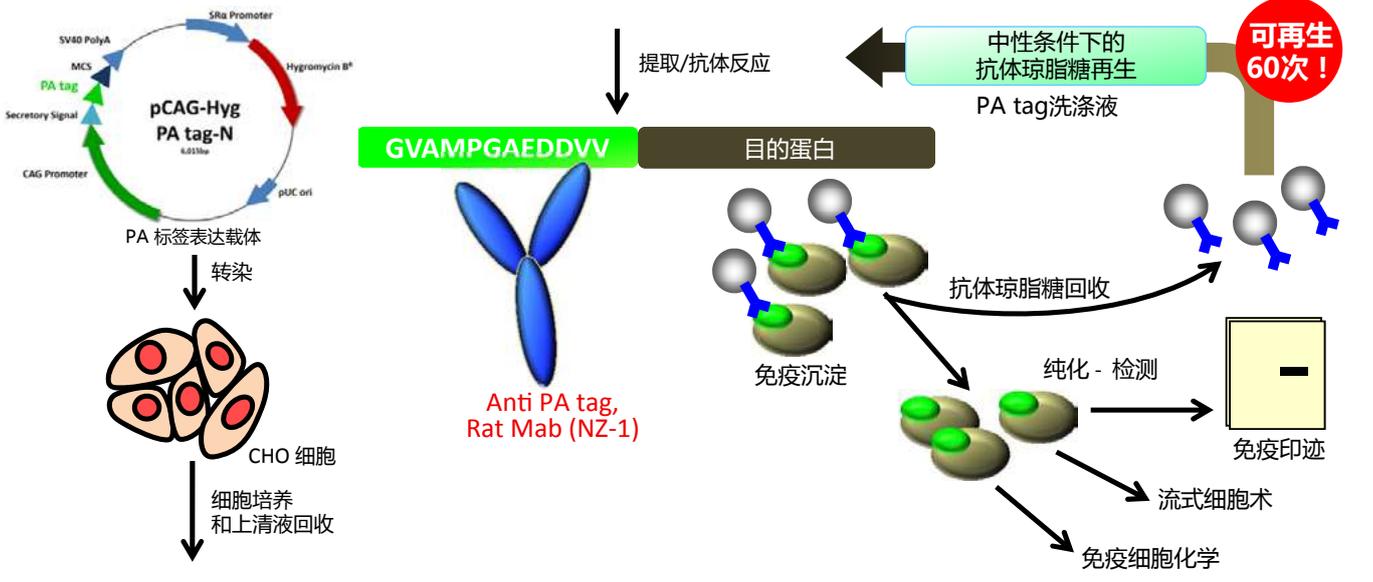


## 从培养基中高效纯化分泌型靶蛋白

PA tag系统是利用高亲和性&高特异性单抗 ( NZ-1 ) 识别肽标签 ( GVAMPGAEDDVV ) 的重组蛋白新型检测系统。PA tag系统中的抗体琼脂糖可通过免疫沉淀法纯化PA tag融合蛋白，并可在洗涤后获得再生。中性pH条件下PA tag肽简单地竞争性地洗脱PA tag融合蛋白。

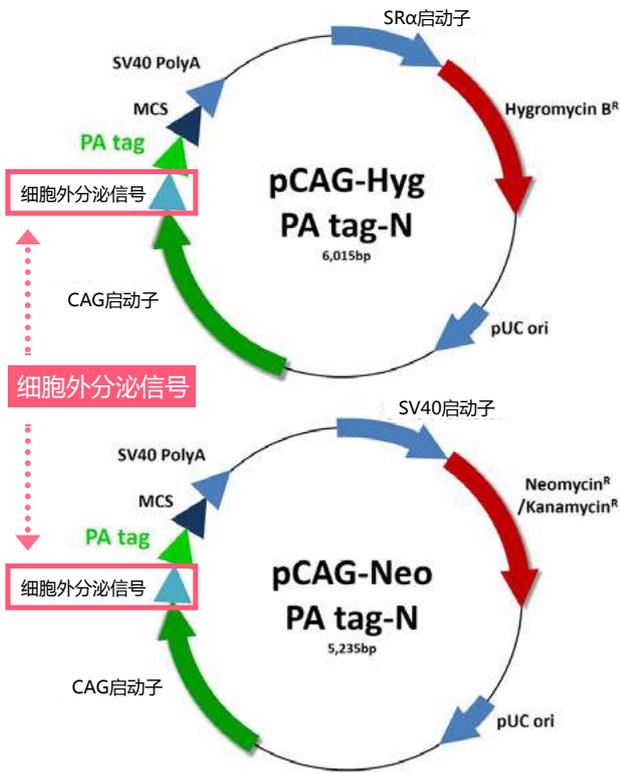
PA tag系统的亲和性和特异性优于现有标签系统，抗体琼脂糖可**再生60次**极大地降低成本，可用于免疫细胞化学、免疫印迹和流式细胞术，是动物宿主细胞重组蛋白生产的有效工具。

## 重组蛋白的新型标签系统

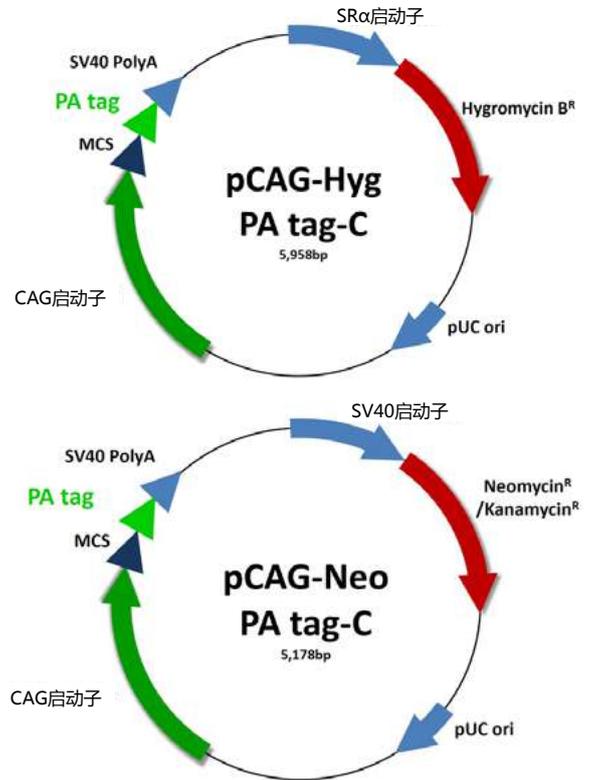


# PA tag重组蛋白表达载体

## pCAG PA tag-N Signal Plus



## pCAG PA tag-C



载体	表达方式	宿主	MCS启动子
pCAG	瞬时表达	灵长类动物细胞 (人、猴) 动物细胞 (小鼠、大鼠和狗)	CAG

### PA tag 纯化蛋白和表达宿主细胞种类举例

纯化蛋白类型	膜蛋白, 血清白蛋白, 分泌性蛋白, 跨膜蛋白细胞外结构域, 糖蛋白, 细胞内蛋白, 转染因子, 酶等
表达宿主细胞	人 HEK293T、人 HEK293S GnT1、人骨肉瘤细胞 lineU-2 OS、CHO K1细胞

# PA 标签抗体，大鼠单克隆抗体 (NZ-1)

NZ-1是特异性识别PA tag (GVAMPGAEDDVV) 的单克隆抗体，能用于检测动物细胞表达的PA tag融合蛋白，亲和性很高并能简单地用肽洗脱！已确认不存在交叉反应的物种包括小鼠、大鼠、仓鼠和犬类。

浓度：  
标签表示 (约1.0 mg/mL)

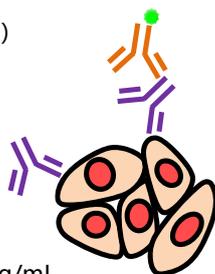
配方：  
1× PBS (pH 7.5) 水溶液

克隆号：  
NZ-1

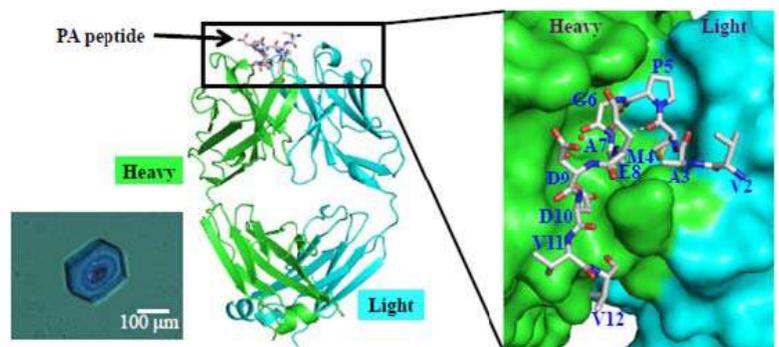
亚型：  
IgG2a

应用：  
免疫印迹 0.01 – 1 µg/mL  
免疫沉淀 10 – 50 µg/assay  
流式细胞术 0.1 – 10 µg/mL  
免疫细胞化学 0.1 – 10 µg/mL

保存条件：  
2–10°C 避免反复冻融

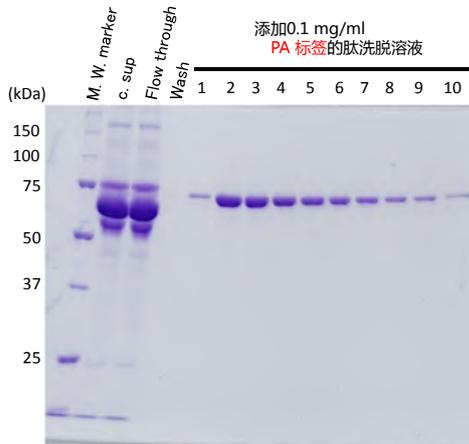


### NZ-1 Fab和PA肽的复合体结构分析

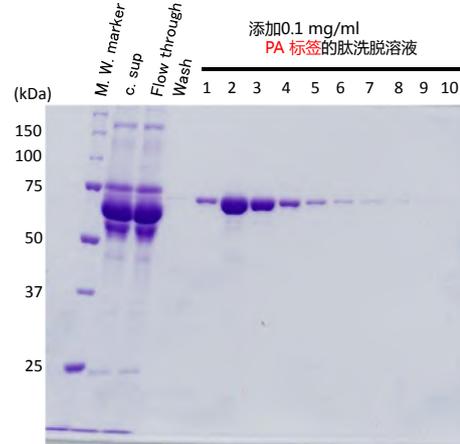


# 使用PA标签亲和纯化HEK细胞培养上清液里的血清蛋白

## 蛋白X ( C端融合型 )



## 蛋白X ( N端融合型 )



数据由大坂大学的蛋白质研究所、蛋白分析和表达实验室Junichi Takagi and Yuki Fujii,提供

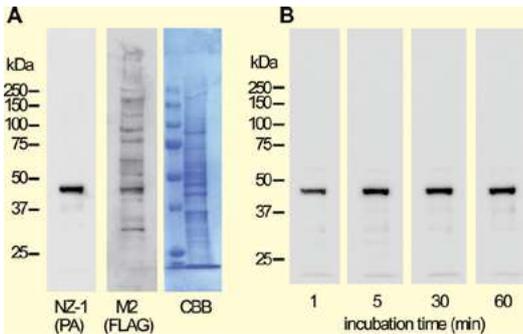
### 实验流程：

纯化目的蛋白：

- 1) 哺乳动物细胞转染 ( HEK293T )  
转染处于40%-60%融合状态的细胞。  
培养基：含5% FBS的D-MEM培养基
- 2) 培养上清液回收，用抗体琼脂糖吸附蛋白  
转染后48-72小时收集约420 ml的细胞培养上清液，添加8ml的PA标签抗体琼脂糖 ( Net 4 ml )，2-10°C混合2小时。
- 3) 抗体琼脂糖回收  
第2步的抗体琼脂糖在50 ml的纯化柱中回收
- 4) 抗体琼脂糖洗涤  
使用4倍抗体琼脂糖体积的TBS缓冲液 ( 20 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl ) 清洗抗体琼脂糖5次
- 5) PA标签肽竞争性洗脱目的蛋白  
添加PA标签肽溶液于1× TBS ( pH 7.5 ) 至终浓度为0.1mg/mL，分10次回收PA tag 融合蛋白X。
- 6) SDS-PAGE分析  
样品量：c. sup : 5  $\mu$ L, flow through: 5  $\mu$ L, wash : 5  $\mu$ L, Peptide elution (1-10): 10  $\mu$ L

**实验结果证明PA标签融合蛋白X能成功纯化，并且不依赖PA标签的位置。  
→Wako的PA标签亲和纯化系统具有极高纯度！**

# 免疫印迹



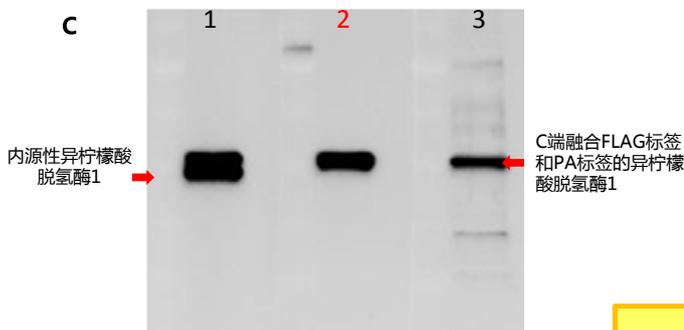
FLAG标签和PA标签融合在C端的重组异柠檬酸脱氢酶 ( IDH1 ) 在骨肉瘤细胞系中表达，并用不同的特异性抗体检测，随后对细胞裂解液进行SDS-PAGE和免疫印迹分析。

图A泳道1—抗加入1  $\mu$ g/ml NZ-1，二抗使用抗大鼠Pa tag NZ-1抗体，泳道2—抗加入3.5  $\mu$ g/ml M2，二抗使用抗小鼠FLAG抗体，这两个条件的样品的转录膜经CBB染色再行比较。结果用PA tag/NZ-1法可以很好地检出目的条带。

图B在一抗中加入1  $\mu$ g/ml NZ-1，二抗使用抗大鼠Pa tag NZ-1抗体的条件下，对一次抗体孵育时间进行修正。结果，孵育1分钟即可清晰观察到条带，孵育5分钟则条带浓度达到饱和。

数据由大坂大学的蛋白质研究所、蛋白分析和表达实验室Junichi Takagi and Yuki Fujii,提供

**PA标签抗体NZ-1的特异性远优于现有抗体**



泳道1：一抗：异柠檬酸脱氢酶1抗体 ( 人鼠嵌合单克隆抗体 )，1  $\mu$ g/mL  
二抗：辣根过氧化物酶标记的抗大鼠IgG 1 : 1000

泳道2：一抗：PA标签抗体，1  $\mu$ g/mL  
二抗：辣根过氧化物酶标记的抗大鼠IgG 1 : 1000

泳道3：一抗：DYKDDDDK标签抗体，3.5  $\mu$ g/mL  
二抗：辣根过氧化物酶标记的抗小鼠IgG 1 : 1000

样品量：每种10  $\mu$ g  
曝光时间：10分钟

数据由东北大学医学院区域创新中心的Yukinari Kato 和 Mika Kaneko博士提供

**PA标签抗体NZ-1的灵敏度远高于天然抗体**

## PA tag 产品系列

### PA tag重组蛋白表达载体

以下产品是哺乳动物细胞的基因表达载体，可用于PA标签和目的蛋白的融合表达。

载体	表达方式	宿主	MCS启动子
pCAG	瞬时表达	灵长类动物细胞 (人、猴) 动物细胞 (小鼠、大鼠和狗)	CAG

选择标记		产品名称	规格	产品编号	保存温度
Animal Cells					
Bleomycin		pCAG-Ble PA tag-C	20 µg	161-26861	-20°C
Bleomycin		pCAG-Ble PA tag-N Signal Plus	20 µg	168-26871	
Blasticidin S		pCAG-Bsd PA tag-C	20 µg	165-26881	
Blasticidin S		pCAG-Bsd PA tag-N Signal Plus	20 µg	162-26891	
Hygromycin B		pCAG-Hyg PA tag-C	20 µg	165-26901	
Hygromycin B		pCAG-Hyg PA tag-N Signal Plus	20 µg	162-26911	
Kanamycin	G418	pCAG-Neo PA tag-C	20 µg	169-26921	
Kanamycin	G418	pCAG-Neo PA tag-N Signal Plus	20 µg	166-26931	

### PA tag 重组蛋白检测 · 纯化用试剂

产品名称	规格	产品编号	保存温度
Anti PA tag, Rat Monoclonal Antibody (NZ-1)	200 µL	016-25861	2-10°C
	1 mL	012-25863	
Anti PA tag, Rat Monoclonal Antibody (NZ-1) Peroxidase conjugated	200 µL	015-25951	
	1 mL	011-25953	
Anti PA tag Antibody Beads	2 mL (Net 1 mL)	012-25841	
	10 mL (Net 5 mL)	018-25843	
	50 mL (Net 25 mL)	016-25844	
PA tag Peptide	5 mg	167-25501	-20°C
	25 mg	163-25503	
PA tag Washing Solution	50 mL	169-27261	室温

### 亲和和标签比较

亲和和标签	TARGET	PA	6 x His	c-Myc	HA	GST
序列	(YPGQ)5V	GVAMPGAEDDVV	HHHHHH	EQKLISEEDL	YPYDVPDYA	-
残基数	21	12	6	10	9	218
分子量 (kDa)	2.34	1.16	0.84	1.20	1.10	26
配位子	TARGET tag	PA tag	Ni, Co, Zn, Cu	c-Myc tag	HA tag	GST
抗体琼脂糖的再利用率	最高可再生循环利用40次	最高可再生循环利用60次	不可再生	不可再生	不可再生	不可再生
重组蛋白纯化成本	+	+	+	++	++	+
单克隆抗体结合力 (KD(M)) (数字越小, 亲和力越高)	1.0x10 <sup>8</sup>	4.9x10 <sup>10</sup>	Ni-NTA: 1.0x10 <sup>5-6</sup>	2.2x10 <sup>9</sup>	2.8x10 <sup>9</sup>	Glutathione: 1.0x10 <sup>6-6</sup>
亲和性	++++	+++++	+++	++++	++++	++++
和动物细胞外 (培养基) 的蛋白非特异性结合	+	+	+++++	+++	+++	++++
和动物细胞内蛋白的非特异性结合	+	+	++++	++++	+++	++++
肽洗脱	+++	+++	咪唑洗脱	++	++	谷胱甘肽洗脱

本比较表由和光独立完成。样品、检测方法及手法不同有可能产生的特异性有变化，不能保证各种亲和和标签的性能。Target tag系统和Pa tag系统同属Wako亲和和标签系统，详情请联系经销商。

#### 富士胶片和光(广州)贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼 3002-3003室  
 询价: wkgz.info@fujifilm.com  
 官网: labchem.fujifilm-wako.com.cn  
 北京 Tel: 010 64136388  
 上海 Tel: 021 62884751  
 广州 Tel: 020 87326381  
 香港 Tel: 852 27999019

官方微信



目录价查询

