



## IgG Agarose Beads 6FF

货号: QS01146

### 简介

IgG Agarose Beads 6FF以刚性琼脂糖微球 6FF 为基础基质，共价偶联人 IgG。这种快流速介质具有更佳的机械性能，能够采用高流速，快速、便捷地一步纯化原核表达系统生产的蛋白 A 融合蛋白偶联物。IgG 琼脂糖微球 6FF 可与钙调蛋白琼脂糖联合使用，通过串联亲和层析 (TAP) 纯化蛋白复合物。IgG 琼脂糖微球 6FF 的特性见下表。

**表1 IgG Agarose Beads 6FF的特点**

基质	6% 高交联度琼脂糖
平均粒径	90 $\mu\text{m}$ (45-165 $\mu\text{m}$ )
配基	人 IgG
结合载量	$\geq 2$ mg 蛋白A/mL沉降树脂
储存温度	2°C - 8°C
储存溶液	50mM K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 1mM MgCl <sub>2</sub> pH 7.2, 20%乙醇

### 缓冲溶液配方

- **洗涤缓冲液:** Tris-吐温 20 缓冲液 (TST) : 50 mM Tris 缓冲液 (pH 7.6) , 含 150 mM NaCl 和 0.05%吐温 20。
- **洗杂缓冲液:** 5 mM 乙酸铵 (NH<sub>4</sub>Ac) , pH 5.0。
- **洗脱缓冲液:** 0.5 M 乙酸 (HAc) 用乙酸铵 (NH<sub>4</sub>Ac) 调节至 pH 3.4。

### 柱填料装填与洗涤

步骤	操作
1	IgG 琼脂糖微球 6FF 以悬浮液形式提供，保存于 50 mM 磷酸氢二钾 (pH 7.2) 、1 mM MgCl <sub>2</sub> 及 20%乙醇的防腐溶液中。
2	将 IgG 琼脂糖 6 Fast Flow 悬浮液装填入合适尺寸的层析柱。
3	使用前用至少 5 倍柱体积的 <b>洗涤缓冲液</b> 洗涤介质，以去除残留乙醇。

### 平衡与上样



依次用以下溶液平衡层析柱（每种 2-3 倍柱体积）：

•洗脱缓冲液

1 •洗涤缓冲液

•洗脱缓冲液

•洗涤缓冲液

2 用 pH 试纸检测流出液 pH 值（应呈中性），必要时调节样品、细胞上清或澄清培养液的 pH 值。将样品上柱。

## 洗涤与洗脱

### 步骤 操作

用以下溶液洗涤介质：

1 • 10 倍柱体积 **洗涤缓冲液**

• 2 倍柱体积 **洗杂缓冲液**

2 用 **洗脱缓冲液** 洗脱样品。

3 用聚丙烯微量离心管分段收集洗脱液（A280=1.0 对应 2.6 mg 蛋白/ml）。

4 样品可直接冻干，无需预先透析。

5 通过梯度十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）分析样品。

**注：**本方法可获得高浓度洗脱液，仅适用于融合产物在此条件下稳定的情况。小规模纯化全程可采用重力流操作。

### 替代洗脱缓冲液

• 0.1 M 甘氨酸-盐酸（pH 3.0）

### 再平衡与保存

• 用洗涤缓冲液重新平衡 IgG 琼脂糖 6FF 至流出液 pH 约 7.0。此步骤至关重要，因层析介质若长期处于低 pH 环境可能导致 IgG 变性。



- 若介质需长期保存，用储存溶液（5倍柱体积）洗涤后，于2°C至8°C储存。严禁冷冻IgG琼脂糖6FF。