

rProtein A Agarose Beads 4FF (QS01008)

目录

一、	产品介绍.....	1
二、	溶液制备.....	1
三、	样品制备.....	1
四、	纯化流程.....	2
五、	清洗.....	2
六、	常见问题.....	2
七、	订购信息.....	3

一、 产品介绍

千株松rProtein A Agarose Beads 4FF (QS01008) 是IgG分离纯化最常用的方法。蛋白A是在几种金黄色葡萄球菌菌株中发现的细胞壁成分。它有5个高亲和力的结合位点，能够特异性地结合几个物种的免疫球蛋白分子的Fc区。共价固定化蛋白A基质已广泛用于纯化几种哺乳动物的IgG。

表1、rProtein A Agarose Beads 4FF产品特点

基质	4%高刚性琼脂糖
粒径范围	45-165 μ m
平均粒径	70 \pm 5 μ m
结合载量	\geq 30mg(人 IgG)/ml填料
pH 稳定性	耐受0.1M 氢氧化钠溶液
化学稳定性	所有常用缓冲溶液中稳定
流速	\leq 500cm/h
操作压力	\leq 0.3MPa
贮存溶液	20%乙醇
贮存温度	4-8 $^{\circ}$ C

二、 溶液配置

平衡液：0.02M PBS、0.15M NaCl，pH 7.0-7.4。

洗脱液：0.1M 柠檬酸缓冲液，pH 3.0。

中和液：1.0M Tris-HCl，pH 9.0。

三、 样品制备

- 1、样品所在溶液要和平衡液保持一致，可以用平衡液进行裂解、透析/超滤/G25进行缓冲液置换。
- 2、样品过滤（平均粒径 $<$ 45 μ m，用0.22 μ m过滤；45 μ m $<$ 平均粒径 $<$ 165 μ m，用

0.45 μ m过滤；平均粒径>165 μ m，用0.8 μ m过滤）。

四、纯化流程

- 1、采用液滴对液滴（避免引入气泡）的方式将柱子连接到层析系统上。
- 2、用纯化水以5ml/min的流速冲洗5个CV。
- 3、用平衡液以5ml/min的流速冲洗10个CV。
- 4、将样品以5ml/min的流速上样。
- 5、用平衡液以5ml/min的流速冲洗至紫外吸收值平稳（10-15个CV）。
- 6、用洗脱液以5ml/min的流速洗脱10CV。
- 7、用纯化水以5ml/min的流速冲洗5个CV。
- 8、用20%乙醇以5ml/min的流速冲洗5个CV。

五、再生清洗

- 1、用0.1M NaOH 缓慢冲洗不低于 5CV
- 2、用纯化水冲洗至 pH 中性。
- 3、用20%乙醇冲洗 3CV，4 $^{\circ}$ C保存。

六、常见问题

问题	可能原因	解决方案
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	1.上样量过载	降低上样量
	2.上样流速过快	降低上样流速
	3.蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质或更换新的介质
	4.目标物和介质结合力弱	确认IgG来源及亚型，选择正确的介质
	5.纯化时选择的缓冲液不合适	确认样本中的pH，结合力弱的目标物可以通过调高pH（8-9）和增加盐浓度（1-3M NaCl）来提高样本和介质的结合力
洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物	1.目标物没有与介质结合或结合量较少	先确认目标物是否与介质结合
	2.洗脱条件不合适	降低洗脱液pH至2.5-3.0
	3.洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	4.洗脱体积过小	加大洗脱体积
目标物纯度较低	1.样品没有经过前处理	根据样品的来源，上柱前必须要经过离心、过滤或稀释
	2.样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低样品粘度和浓度。
	3.洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4.杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5.目标物出现降解	注意样本纯化前后的保存条件，不得在高温、过酸、过碱条件长时间放置
	6.柱料装填效果不佳	重新装填或购买

	7.分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	8.介质中有微生物生长	介质使用完后,请及时正确保存介质
介质载量下降	1.上样流速过快	降低上样流速
	2.蛋白或脂类在介质中聚集,导致载量下降	及时清洗介质
	3.使用次数过多,配基逐渐脱落	更换新介质
色谱峰上升过陡	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰上升过缓或拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡,重新装柱
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜

七、 订购信息

产品名称	货号
耐碱 rProtein A Agarose Resins 4FF	QS01007
rProtein A Agarose Resins 4FF	QS01008
rProtein G Agarose Resins 4FF	QS01009
rProtein L Agarose Resins 4FF	QS01010
rProtein A/G Agarose Resins4FF	QS01011