



rProtein A填料预装柱 (1 mL, 5 mL, 20mL)

货号: QS01008A

rProtein A填料预装柱以便捷的形式实现了快速、可重现且简便的分离。该柱与诸如 中低压层析系统之类的液相色谱系统配合使用能达到最佳效果，但也能够通过注射器或蠕动泵进行操作。

目录

一、产品描述.....	1
二、试剂准备.....	3
三、纯化操作.....	4
四、储存条件.....	5
五、更多信息.....	5
六、订购信息.....	5

一、产品描述

预装柱特点

预装柱柱体由生物相容性聚丙烯制成，不会与生物分子发生相互作用。滤膜孔径经过优化，可直接在柱上加载超声波处理的未澄清裂解液，而不会造成背压问题或介质泄漏。

柱体配有入口的密封件和出口的快拆端。表1列出了预装柱的特性。

注意：预装柱不能打开或重新填充。

注意：确保适配器紧固以防止泄漏。

表 1 预装柱的特点。

柱子体积	1 mL, 5 mL, 20mL
柱子尺寸	7.8 × 25 mm (1 ml); 15.8× 27 mm (5 ml); 15.8 × 100 mm (20 ml)
最大流速	1 mL: 4 mL/min, 5 mL: 20 mL/min, 20 mL: 4 mL/min,



推荐流速	1 mL: 1 mL/min, 5 mL: 5 mL/min, 20 mL: 1 mL/min,
最大背压	3 bar (0.3 MPa)

填料特性

rProtein A 填料1毫升和5毫升层析柱分别填充了1毫升和5毫升的rProtein A Agarose 4FF填料。

蛋白A (Protein A) 是一种主要来源于金黄色葡萄球菌 (Staphylococcus aureus) 细胞壁的蛋白质。它最著名的特性是其对多种哺乳动物免疫球蛋白G (IgG) 分子Fc区域的高亲和力、特异性结合能力。这种结合能力非常强 (亲和常数可达 10^8 L/mol), 且具有高度特异性, 主要针对IgG的Fc段, 而非其抗原结合部位 (Fab段)。蛋白A能够结合人类IgG (除IgG3亚类外) 以及许多其他物种 (如小鼠、兔、猪等) 的IgG。

蛋白A分子包含多个 (通常是5个) 高度同源的IgG结合结构域, 每个结构域都能独立结合一个IgG分子, 这种多价结构增强了其结合能力和稳定性。其结合具有pH依赖性, 在接近中性 (pH 7-8) 条件下结合最强, 而在酸性 (pH ~3) 条件下容易解离, 这一特性对其应用至关重要。基质偶联蛋白A对IgG的结合能力取决于免疫球蛋白的来源物种, 总载量还受其他因素影响, 如上样流速和样品浓度。以人IgG为例, 其结合能力约为30毫克IgG/毫升填料。 rProtein G 填料的特性总结见表2。

表2 rProtein A 填料的特点

基质	4%高度交联的琼脂糖球
颗粒大小 ¹	90 μ m (d_{50v})
流速	推荐1ml预装柱用1ml/min; 5mL预装柱用5ml/min。最大流速分别不要超过4ml/min, 20 ml/min。
动态结合载量	> 30 mg 人 IgG/ml 填料
pH工作范围	2 – 8
pH 稳定性 ²	短期: 3 – 8 长期: 2 – 8
储存	20%乙醇

¹ d_{50v} 是累积体积分布中的中等颗粒大小。

² 短期pH: 可以在不影响功能的情况下进行清洁或消毒的pH范围。长期pH: 可以在不影响功能的情况下操作的pH范围。

表3. 蛋白A与蛋白G的相对结合强度对比



Species	Subclass	Protein A binding	Protein G binding
Human	IgA	variable	—
	IgD	—	—
	IgE	—	—
	IgG ₁	++++	++++
	IgG ₂	++++	++++
	IgG ₃	—	++++
	IgG ₄	++++	++++
	IgM*	variable	—
Avian egg yolk	IgY†	—	—
Cow		++	++++
Dog		++	+
Goat		—	++
Guinea pig	IgG ₁	++++	++
	IgG ₂	++++	++
Hamster		+	++
Horse		++	++++
Koala		—	+
Llama		—	+
Monkey (rhesus)		++++	++++
Mouse	IgG ₁	+	++++
	IgG _{2a}	++++	++++
	IgG _{2b}	+++	+++
	IgG ₃	++	+++
	IgM*	variable	—
Pig		+++	+++
Rabbit	no distinction	++++	+++
Rat	IgG ₁	—	+
	IgG _{2a}	—	++++
	IgG _{2b}	—	++
	IgG ₃	+	++
Sheep		+/-	++

说明：

- 蛋白 G 相较于蛋白 A，对牛、羊、马等多克隆 IgG 的结合力显著增强，且能有效结合大鼠 IgG 和人 IgG3 等蛋白 A 无法结合的亚型。
- 结合强度分类依据实验数据，可能因具体实验条件略有差异。

二、试剂准备

蛋白 A 的 IgG 结合与洗脱条件

蛋白 A 可在较宽 pH 范围内（如 pH 3.5–7.0）结合 IgG，因此可根据具体应用需求灵活选择缓冲液 pH 值。在 pH 7.0 时，蛋白 A 与 IgG 的结合亲和力最强。洗脱时需将 pH 降至 3.0–3.5（具体取决于样品类型）。

酸中和保护建议

为避免酸敏感性 IgG 失活，建议在收集含 IgG 组分的离心管中预先加入 60–200 μl 的 1 M Tris-HCl 缓冲液（pH 9.0）。此操作可使洗脱液最终 pH 恢复至近中性，确保抗体活性。

缓冲液配制

- 水质与试剂：使用高纯度水及化学试剂。
- 过滤建议：缓冲液使用前需经 0.45 μm 滤膜过滤。



• 推荐缓冲液配方：

- 结合缓冲液：20 mM 磷酸钠缓冲液，pH 7.0
- 洗脱缓冲液：0.1 M 甘氨酸-盐酸缓冲液，pH 3.0

样品前处理

1. 缓冲液适配：需将样品调整为与结合缓冲液相同的组成。可通过以下方法实现：
 - 用结合缓冲液稀释样品
 - 使用脱盐柱进行缓冲液置换。
2. 样品澄清：
 - 确保样品完全溶解，避免颗粒物堵塞层析柱。
 - 上样前需离心或经 0.45 μm 滤膜过滤以去除杂质。
 - 严禁直接上样浑浊溶液。

三、纯化操作

1. 收集管预处理

按每毫升待收集组分的体积，预先向收集管中加入 60–200 μl 的 1 M Tris-HCl 缓冲液 (pH 9.0) 。

2. 层析柱连接

- 用结合缓冲液充满注射器或泵管路。
- 移除层析柱密封塞，通过适配器将柱体与注射器或泵管路以“液滴衔接”方式连接，避免气泡进入柱内。

3. 出口端处理

移除层析柱出口端的折断式封头。

4. 柱平衡

以 1 ml/min (1 毫升柱) 或 5 ml/min (5 毫升柱) 的流速，用 10 倍柱体积的结合缓冲液冲洗层析柱。

5. 上样

- 注射器法：通过鲁尔接头适配器连接注射器，手动推注样品。
- 泵法：通过泵将样品加载至层析柱。

6. 冲洗未结合组分

用 5–10 倍柱体积的结合缓冲液冲洗，直至流出液中无目标物（如监测 A280 吸光度恢复基线）。

7. 洗脱目标 IgG

使用 2–5 倍柱体积的洗脱缓冲液进行洗脱。若结合力较强，可适当增加洗脱体积。

8. 脱盐处理 (可选)



若需去除洗脱液中的盐分，可使用脱盐柱进行缓冲液置换。

注意事项

- 层析柱重复使用：仅建议用于同种单克隆抗体的纯化，避免交叉污染。
- 流速限制：1 毫升柱最大流速为 1–3 ml/min。
- 严禁操作：不可上样浑浊溶液，需确保样品经 0.45 μ m 过滤或离心澄清。
(注：具体参数请以实际实验条件优化为准。)

四、储存条件

用2倍柱体积的蒸馏水清洗，然后用2倍柱体积的20%乙醇清洗。储存温度为4°C至30°C。不要冷冻。确保柱子密封良好以避免干燥。

五、更多信息

更多有关优化、故障排除、清洗等其他主题的信息可以在[公众号：千株松生物](#)上查找。

六、订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
Capto Q预装柱	1 ml, 5ml, 20ml	QS01048A
SP 预装柱		QS01047A
Ni NTA Agarose Beads 6FF预装柱		QS01002A
Ni TED Agarose Beads 6FF预装柱		QS01003A
Glutathione Agarose Beads 4FF预装柱		QS01012A
rProtein A Agarose 4FF预装柱		QS01008A
rProtein G Agarose 4FF预装柱		QS01009A