



# rProtein A Agarose Beads 4FF

货号: QS01008

## 一、产品概述

rProtein A Agarose Beads 4FF (货号: QS01008) 是一款高性能亲和层析介质, 专为单克隆抗体、多克隆抗体及 Fc-融合标签蛋白的分离与纯化设计, 广泛应用于生物制药、分子生物学研究、临床检测等领域。本产品以高度交联的 4%琼脂糖微球为基质, 共价偶联重组 Protein A 配体, 经优化工艺制备而成, 兼具高结合载量、高特异性、高流速及良好的化学稳定性, 可实现目的蛋白的一步高效纯化, 大幅提升实验效率与产物纯度。

重组 Protein A 由大肠杆菌高效表达, 去除了天然 Protein A 中与白蛋白及细胞表面结合的非必需结构域, 仅保留五个高亲和力 IgG 结合区域 ( $K_a=10^8/M$ ), 能显著降低非特异性吸附, 确保纯化产物的高纯度与高活性。基质采用高度交联技术, 可耐受较高操作压力, 适配重力柱、中压层析等多种操作模式, 满足实验室小规模纯化与工业化中试、生产等不同场景需求。

## 二、产品特性

- **高结合载量:** 对人 IgG 的结合载量约 30 mg/ml 基质, 能高效捕获样品中的目的蛋白, 减少介质用量与实验成本。
- **高特异性:** 重组 Protein A 仅特异性结合哺乳动物 IgG 的 Fc 片段, 不结合人 IgM、IgD、IgA 及狗 IgG, 非特异性吸附极低, 纯化产物纯度可达 95%以上。
- **优良的物理化学稳定性:** 基质高度交联, 粒径均匀 (45-165  $\mu\text{m}$ ), 机械强度高, 可耐受 0.3 MPa (3 bar) 操作压力, 流速可达  $\leq 500$  cm/h; 在 pH 3.0-10.0 范围内稳定, 可耐受常用缓冲液及变性剂 (如 6 M 盐酸胍、8 M 尿素), 适配多种洗脱条件。
- **操作便捷:** 可直接用于重力柱装填或适配各类层析系统, 纯化流程简单快捷, 整个操作周期约 30 分钟 (取决于样品体积与粘稠度), 且介质可重复使用, 结合能力无明显损失。
- **安全稳定:** 无动物源性成分, 降低交叉污染风险; 储存条件温和, 2-8°C 冷藏保存即



可，无需冷冻，便于长期储存与使用。

### 三、技术参数

参数名称	具体规格
产品名称	rProtein A Agarose Beads 4FF
基质	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体	大肠杆菌表达的重组 Protein A (含 5 个 IgG 结合域)
粒径范围	45-165 $\mu\text{m}$
结合载量	约 30 mg hIgG/ml 基质
操作压力	$\leq 0.3$ MPa (3 bar)
工作 pH 范围	3.0-10.0
化学稳定性	耐受所有常用缓冲液, 6 M 盐酸胍, 8 M 尿素, 0.1 M 氢氧化钠
推荐流速	重力流, 100-300 cm/h; 中压层析 $\leq 500$ cm/h
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1 $\times$ PBS 缓冲液 (pH 7.4)
储存温度	2-8 $^{\circ}\text{C}$ (严禁冷冻)
用途	哺乳动物 IgG、Fc-融合蛋白的分离、纯化及免疫沉淀 (IP) 实验

### 四、溶液配置

实验前需提前配置以下缓冲液，所有缓冲液均需用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤，去除杂质与气泡，避免堵塞介质或影响纯化效果。

#### 4.1 平衡液 (Binding/Wash Buffer)



配方：0.02 M PB + 0.15 M NaCl, pH 7.0-7.4; 或直接使用 1×PBS 缓冲液 (pH 7.4)。

用途：平衡介质至与样品一致的缓冲体系，保护目的蛋白活性，同时去除介质表面的保护液。

#### 4.2 洗脱液 (Elution Buffer)

推荐配方 (二选一)：

- 0.1 M 柠檬酸缓冲液, pH 3.0
- 0.1 M 甘氨酸-HCl 缓冲液, pH 3.0

用途：通过降低 pH 值，破坏 Protein A 与 IgG Fc 片段的结合，实现目的蛋白的洗脱。

#### 4.3 中和液 (Neutralizing Buffer)

配方：1.0 M Tris-HCl, pH 8.5-9.0。

用途：洗脱组分需立即用中和液调节至中性 (pH 7.0-7.4)，避免低 pH 环境破坏目的蛋白的生物活性，推荐用量为洗脱组分体积的 1/10。

#### 4.4 清洗液 (Cleaning Buffer)

- 去沉淀/变性物质：6 M 盐酸胍溶液
- 去疏水性杂蛋白：70%乙醇或 1% Triton X-100 溶液
- 在位清洗：0.1 M 氢氧化钠溶液

### 五、样品制备

- 1 样品缓冲液调整：确保样品所在缓冲液与平衡液一致，可通过透析、超滤或 G25 凝胶过滤进行缓冲液置换；若样品为血清、腹水或细胞培养液，可直接用平衡液稀释至合适浓度。
- 2 样品澄清处理：样品在上样前需进行离心 (12000 rpm, 4°C, 10 min)，去除沉淀；随后用滤膜过滤 (粒径 < 45 μm 用 0.22 μm 滤膜, 45-165 μm 用 0.45 μm 滤膜, > 165 μm 用 0.8 μm 滤膜)，避免微小固体颗粒堵塞介质或影响结合效率。
- 3 样品浓度调节：若样品中抗体浓度过高 (> 2 mg/ml)，可用平衡液稀释至 1-2 mg/ml，避免浓度过高影响柱效与结合效果。



## 六、纯化操作流程

本产品可适配重力柱法、孵育法及中压层析法，以下为最常用的重力柱法操作流程，操作过程中需避免引入气泡，所有溶液用量均按柱体积（CV）计算。

### 6.1 重力柱装填（若使用散装介质）

- 1 取合适规格的重力层析柱，装入下垫片，加入适量去离子水润洗柱管与垫片，关闭下出口。
- 2 将 rProtein A Agarose Beads 4FF 混悬液轻柔颠倒摇匀，用枪头吸取适量浆液加入柱管中（填料实际体积占悬液的 1/2），打开下出口，流干保护液。
- 3 加入适量去离子水冲洗填料，待液体重力流干后，关闭下出口；装入润洗后的上垫片，确保垫片与填料之间无空隙且保持水平。

### 6.2 平衡

向装填好的重力柱中加入 5 个柱体积的平衡液，开启下出口，让平衡液自然流干，重复 2-3 次，直至柱床 pH 与电导率稳定（与平衡液一致），使介质处于与样品相同的缓冲体系。

### 6.3 上样

将预处理好的样品缓慢加入平衡后的柱中，控制流速，使样品保留时间至少 2 min，确保目的蛋白与介质充分结合；可反复上样 1-2 次，提高结合效率，收集流出液（流穿液），用于 SDS-PAGE 检测结合情况。

### 6.4 洗杂

加入 10-15 个柱体积的平衡液（洗杂液），缓慢流干，去除介质表面非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液，可通过 SDS-PAGE 检测洗杂效果，直至洗脱峰基线平稳。

### 6.5 洗脱

加入 5-10 个柱体积的洗脱液，分段收集洗脱组分，每 1 个柱体积收集 1 管，分别检测（如紫外吸收法，OD280 nm）；收集所有有吸收峰的组分，立即向每管洗脱液中加入 1/10 体积的中和液，轻柔混匀，调节 pH 至中性，防止目的蛋白变性。



## 6.6 介质再生与保存

- 1 再生：洗脱完成后，加入 3 个柱体积的平衡液冲洗介质，再加入 5 个柱体积的去离子水平衡，可重复使用（推荐使用次数不超过 10 次），若结合效率下降，需进行在位清洗。
- 2 保存：再生后的介质，加入 5 个柱体积的 20%乙醇溶液，密封柱管，置于 2-8°C 冷藏保存；长期不使用时，需定期检查保护液，若出现浑浊、沉淀等污染迹象，需更换保护液或丢弃。

## 七、在位清洗 (CIP)

当介质出现流速变慢、结合载量下降或杂蛋白吸附增多时，需进行在位清洗，去除介质表面的沉淀、变性蛋白及疏水性杂质，恢复介质性能。

- 1 去除沉淀/变性物质：用 2 个柱体积的 6 M 盐酸胍溶液冲洗介质，停留 5 min，然后立即用 5 个柱体积的平衡液 (pH 7.4) 冲洗，直至 pH 与电导率稳定。
- 2 去除疏水性杂蛋白：用 3-4 个柱体积的 70%乙醇或 2 个柱体积的 1% Triton X-100 溶液冲洗，然后立即用 5 个柱体积的平衡液冲洗，直至基线平稳。
- 3 深度清洗：用 0.1 M 氢氧化钠溶液缓慢冲洗不少于 5 个柱体积，然后用去离子水冲洗至 pH 中性，再用平衡液平衡后，即可重新使用或保存。

## 八、常见问题及解决方案

常见问题	可能原因	解决方案
流速变慢	1. 筛板堵塞；2. 介质被蛋白/杂质堵塞；3. 样品未过滤，含微小固体颗粒	1. 清洗或更换筛板；2. 按第 7 部分进行在位清洗；3. 样品重新离心、过滤后上样
洗脱组分中无目的蛋白	1. 上样量过载；2. 样品 pH/缓冲液不合适，结合力弱；3. 洗脱条件不当；4. 抗体降解或沉淀	1. 减少上样量；2. 调整样品 pH 至 7.0-7.4，用平衡液置换缓冲液；3. 降低洗脱液 pH 至 2.5-3.0，增加洗脱体积；4. 优化样



		品保存条件，避免高温、过酸过碱
目的蛋白回收率低	1. 上样流速过快，结合不充分；2. 洗杂不彻底，杂蛋白竞争结合；3. 介质载量下降	1. 降低上样流速，延长保留时间；2. 增加洗杂体积，直至基线平稳；3. 对介质进行在位清洗，若无效则更换新介质
纯化产物纯度低	1. 样品未预处理，杂蛋白过多；2. 洗杂不彻底；3. 非特异性吸附增加；4. 柱床装填不均	1. 样品重新离心、过滤，必要时进行预处理；2. 增加洗杂体积和次数；3. 检查样品缓冲液，避免高浓度变性剂；4. 重新装填柱床
介质载量下降明显	1. 使用次数过多，配基脱落；2. 杂质长期积累，未及时清洗；3. 操作条件超出耐受范围	1. 更换新介质；2. 定期进行在位清洗；3. 严格遵循操作 pH、压力及流速要求

## 九、注意事项

- 1 本产品仅用于科研、工业生产，不用于临床诊断或治疗。
- 2 介质从 2-8℃取出后，需在室温下恢复至室温，再轻柔摇匀，避免温度骤变产生气泡或破坏介质结构。
- 3 操作过程中，所有缓冲液和样品需避免引入气泡，气泡会影响介质与蛋白的结合，降低纯化效率。
- 4 洗脱液为低 pH 溶液，具有腐蚀性，操作时需佩戴手套、护目镜等防护用品，避免接触皮肤和黏膜。
- 5 介质不可冷冻，冷冻会导致琼脂糖基质破裂，丧失结合能力；储存过程中需密封，防止污染和保护液挥发。
- 6 配基对低 pH 敏感，洗脱后需尽快用中和液调节 pH，且低 pH 洗脱时间不宜过长，以



延长介质使用寿命。

- 7 不同种属、亚型的 IgG 与 Protein A 的结合能力存在差异，使用前可参考相关文献，优化实验条件。
- 8 实验结束后，所用器皿需用去离子水清洗干净，避免残留缓冲液或蛋白影响后续实验。

## 十、订购信息及相关产品

产品名称	货号	用途
rProtein A Agarose Beads 4FF	QS01008	IgG、Fc-融合蛋白纯化
耐碱 rProtein A Agarose Beads 4FF	QS01007	高碱环境下 IgG 纯化
rProtein G Agarose Beads 4FF	QS01009	不同亚型 IgG 纯化
平衡液/洗脱液套装	定制	配套纯化使用，无需自行配置

## 十一、售后服务

若您在产品使用过程中遇到任何问题，或对产品有疑问、需求，可通过以下方式联系我们，我们将在 24 小时内给予专业回复与技术支持。

咨询电话：17302508337（微信同号）

**免责声明：**本产品手册提供的操作方法为标准流程，实际实验中可根据样品特性和实验需求进行优化；因操作不当、样品质量等非产品本身问题导致的实验失败，本公司不承担相关责任。