

## 蛋白 A 高速层析介质 (4FF)

### Protein A Beads 4FF

货号	规格
BDTL0002-5	5ml
BDTL0002-25	25ml
BDTL0002-100	100ml

#### 1. 产品介绍

蛋白 A 高速层析介质 (4FF) 是以高度交联的 4% 琼脂糖凝胶为基质，可以在相对较高的流速下进行单克隆抗体和多克隆抗体的纯化（具体性能见下表），被工业客户普遍接受。

蛋白 A 是一种分离自金黄色葡萄球菌的细胞壁蛋白，主要通过 Fc 片段结合哺乳动物 IgG，但是不与狗 IgG 结合，不结合人 IgM、IgD 和 IgA。蛋白 A 与蛋白 G 与不同来源及亚类的免疫球蛋白结合能力不一样（见附表）。天然蛋白 A 有五个 IgG 结合区域和一些未知功能的区域，重组蛋白 A 去除了与白蛋白及细胞表面结合位点，只含有五个 IgG 结合区域，减少了非特异性吸附。

蛋白 A 高速层析介质 (4FF) 产品性能表

指标	性能
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	重组蛋白 A
载量	>40mg 人 IgG/ml 介质
粒径 (μm)	45-165
最大流速	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	3-12
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	2 °C - 8 °C

#### 2. 纯化流程

##### 2.1 Buffer 的准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

- 结合/ 洗杂 Buffer: 0.15M NaCl, 20 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.0
- 洗脱 Buffer: 0.1M 甘氨酸, pH 3.0

- 中和液：1M Tris-HCl, pH8.5

## 2.2 样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 可以用结合/洗涤缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用结合/洗涤缓冲液透析。

样品在上样前建议离心或用 0.22 $\mu$ m 或 0.45 $\mu$ m 滤膜过滤, 减少杂质, 提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

## 2.3 样品纯化

- 将蛋白 A 高速层析介质 (4FF) 装入合适的层析柱, 层析用 5 倍柱体积的结合 Buffer 进行平衡, 使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下, 起到保护蛋白的作用。
- 将样品加到平衡好的层析介质中 (保证目的蛋白与层析介质充分接触, 提高目的蛋白的回收率), 收集流出液。
- 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗, 去除非特异性吸附的杂蛋白, 收集洗杂液。
- 使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer, 收集洗脱液, 即目的蛋白组分。
- 依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料, 最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡, 然后保存在等体积的 20% 的乙醇中, 置于 4 $^{\circ}$ C 保存, 防止填料被细菌污染。

## 2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品 (包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分) 以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

## 3. 填料清洗

本品可以重复使用而无需再生, 但随着一些变性物质的沉淀和蛋白的聚集, 往往造成流速和结合载量都下降, 严重影响柱子的性能, 这时需要对层析介质进行清洗。

### ➤ 去除一些沉淀或变性物质

用 2 倍柱体积的 6M 盐酸胍溶液进行清洗, 然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

### ➤ 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70% 乙醇或 2 倍柱体积的 1% Triton X-100 清洗, 然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

## 4. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	筛板被堵塞	清洗或更换筛板

	填料被堵塞	按照第3部分进行层析介质清洗 裂解液中含有微小的固体颗粒，建议过滤
样品纯化过程中曲线不稳	样品或 buffer 中有气泡	去除样品或柱子中的气泡 样品和buffer进行脱气
洗脱组分中没有目的蛋白	样品中抗体浓度太低	使用其抗原做配体的介质
	抗体被降解	适当的提高洗脱pH
回收率逐渐减低	上样量太多	减少上样量
	柱子太脏，载量降低	按照第3部分进行层析介质清洗

## 5. 抗体纯化介质一览表

通用性抗体纯化产品		
蛋白 A 层析介质 (普通型、高载量、特异性优良)	BDTL0001-1	1ml
	BDTL0001-5	5ml
	BDTL0001-25	25ml
	BDTL0001-100	100ml
蛋白 A 重力预装柱套装	BDTL0001-K	套
蛋白 A 高速层析介质 (4FF) (高流速、高载量、特异性优良、耐压)	BDTL0002-5	5ml
	BDTL0002-25	25ml
	BDTL0002-100	100ml
蛋白 A 高速层析介质 (4FF) 预装柱 (预装柱、高流速、高载量、配套 BioRad 和 GE 等公司机器)	BDTL0002-11	1×1ml
	BDTL0002-51	5×1ml
	BDTL0002-15	1×5ml
	BDTL0002-55	5×5ml
	BDTL0002-3115	3×1ml+1×5ml
蛋白 G 层析介质 (普通型、高载量、特异性优良)	BDTL0003-1	1ml
	BDTL0003-5	5ml
	BDTL0003-25	25ml
	BDTL0003-100	100ml
蛋白 G 重力预装柱套装	BDTL0003-K	套
蛋白 G 高速层析介质 (4FF) (高流速、高载量、特异性优良、耐压)	BDTL0004-5	5ml
	BDTL0004-25	25ml

	BDTL0004-100	100ml
蛋白 G 高速层析介质 (4FF) 预装柱 (预装柱、高流速、高载量、配套 BioRad 和 GE 等公司机器)	BDTL0004-11	1×1ml
	BDTL0004-51	5×1ml
	BDTL0004-15	1×5ml
	BDTL0004-55	5×5ml
	BDTL0004-3115	3×1ml+1×5ml
蛋白 A/G 高速层析介质 (4FF) (用于 IP、Co-IP 实验)	BDTL0021-5	5ml
	BDTL0021-25	25ml
	BDTL0021-200	200ml
蛋白 L 层析介质 (结合更广泛来源及亚类的抗体)	BDTL0022-5	5ml
	BDTL0022-25	25ml
	BDTL0022-200	200ml
<b>单克隆抗体纯化产品</b>		
蛋白 A 高速耐碱层析介质 (4FF) (耐碱、高流速、高载量、特异性优良、耐压、高稳定性)	BDTL0005-10	10ml
	BDTL0005-100	100ml
	BDTL0005-500	500ml
蛋白 A 高速耐碱层析介质 (4FF) 预装柱 (预装柱、耐碱、高流速、高载量、耐压、高稳定性、配套 BioRad 和 GE 等公司机器)	BDTL0005-11	1×1ml
	BDTL0005-51	5×1ml
	BDTL0005-15	1×5ml
	BDTL0005-55	5×5ml
	BDTL0005-3115	3×1ml+1×5ml
<b>多克隆抗体纯化产品</b>		
预活化层析介质 (抗原偶联专用) (预活化层析介质, 可以和氨基、巯基反应, 用来偶联蛋白、核酸、小分子等。适合偶联抗原纯化多克隆抗体)	BDTL0006-5	5ml
	BDTL0006-25	25ml
	BDTL0006-100	100ml
亲疏层析介质 (快速从血清、腹水或组织培养液中纯化抗体)	BDTL0025-5	5ml
	BDTL0025-10	10ml
	BDTL0025-50	50ml
	BDTL0025-250	250ml

附表 Protein A 和 Protein G 对不同抗体的结合能力

种属	亚型	Protein A 结合力	Protein G 结合力
----	----	---------------	---------------

4 / 5

Human	IgA	Variable	-
	IgD	-	-
	IgE	-	-
	IgG1	++++	++++
	IgG2	++++	++++
	IgG3	-	++++
	IgG4	++++	++++
	IgM	Variable	-
Avian egg yolk	IgY	-	-
Cow		++	++++
Dog		++	+
Goat		-	++
Guinea pig	IgG1	++++	++
	IgG2	++++	++
Hamster		+	++
Horse		++	++++
Koala		-	+
Liama		-	+
Monkey (rhesus)		++++	++++
Mouse	IgG1	+	++++
	IgG2a	++++	++++
	IgG2b	+++	+++
	IgG3	++	+++
	IgM	Variable	-
Pig		+++	+++
Rabbit	No distinction	++++	+++
Rat	IgG1	-	+
	IgG2a	-	++++
	IgG2b	-	++
	IgG3	+	++
Sheep		+/-	++

++++: 结合能力强; ++: 结合能力中等; -: 结合能力弱或没有结合