

重组蛋白 A 琼脂糖凝胶 FF

品名: 重组蛋白 A 琼脂糖凝胶 FF, Recombinant Protein A SePharose Fast Flow, rProtein A SePharose FF

目录号: BN26134、BN26303 (中压预装柱)、BN26304 (重力预装柱)

贮存: 20%乙醇, 2-8℃

运输: 2-25℃, 常压、避光

保质期: 3年

相关介绍:

蛋白 A 是一种金黄色葡萄球菌细胞壁蛋白质, 包含有 5 个区域, 可以同 IgG 的 Fc 片段结合。作为一个亲和配基, 蛋白 A 能够比较紧密地偶联到 SePharose 上, 使得这些区域可以同游离的 IgG 自由结合。一分子的蛋白 A 可以结合两分子的 IgG。

技术指标:

基质	4%高度交联琼脂糖凝胶
配基	重组蛋白 A
配基密度	≥6 mg/ml
填料粒径	60~180 μm
最大流速	800 cm/h
推荐流速	20~100 cm/h
pH 稳定性	pH 3~9
耐反压	0.3 MPa
载量	≥40 mg/ml IgG

抗体与蛋白 A、蛋白 G 的结合力:

种类 Species	亚型 Antibody Class	蛋白 A Protein A	蛋白 G Protein G
人 Human	IgG ₁	+++	+++
	IgG ₂	+++	+++
	IgG ₃	+	+++
	IgG ₄	+++	+++
	IgM	+	-
	IgD	-	-
	IgA	+	-
	Fab	+	+
小鼠 Mouse	IgG ₁	+	++
	IgG _{2a}	+++	+++
	IgG _{2b}	+++	+++
	IgG ₃	+++	+++
	IgM	-	-
大鼠 Rat	IgG ₁	+	++
	IgG _{2a}	-	+++
	IgG _{2b}	-	+

本产品仅用于科研

	IgG _{2c}	+++	+++
牛 Cow	IgG ₁	+	+++
	IgG ₂	+++	+++
山羊 Goat	IgG ₁	+	+++
	IgG ₂	+++	+++
马 Horse	IgG _(ab)	+	-
	IgG _(c)	+	-
	IgG _(T)	-	+++
兔 Rabbit	IgG	+++	+++
猪 Pig	IgG	+++	+
狗 Dog	IgG	+++	+
鸡 Chicken	IgY	-	-

注：-表示不结合；+表示微弱结合；++表示中等结合；+++表示很强结合。

应用举例：

结合缓冲液：20 mM 磷酸缓冲液，150 mM NaCl，pH 7.4

洗脱缓冲液：0.1M 柠檬酸缓冲液，pH 4.0

中和缓冲液：1 M Tris-HCl，pH 9.0

- 1) 1 ml 重组蛋白 A 琼脂糖凝胶预填柱用 5~10 个柱床体积的蒸馏水洗去保存液；
- 2) 用结合缓冲液结合缓冲液平衡 5~10 个柱床体积；
- 3) 将 5 ml 兔多抗血清用结合缓冲液稀释到 50 ml，0.45 μm 滤膜过滤上样；
- 4) 用结合缓冲液再洗 5~10 个柱床体积；
- 5) 用洗脱缓冲液洗脱抗体，收集洗脱峰，并用中和缓冲液调节其 pH 至中性；
- 6) 每次使用后用 3~5 个柱床体积的 0.1 M 柠檬酸缓冲液（pH 3.0）再生清洗；
- 7) SDS-PAGE 电泳分析洗脱下来的兔多抗纯度在 95%以上。

注意事项：

- 1) 预填柱使用简易方便，在没有仪器设备的条件下也可以完成纯化任务。
- 2) 样品洗脱后一般 pH 很低，应立即用碱性中和缓冲液（如 1 M Tris-HCl，pH 9.0）将收集到的抗体溶液中和到中性，或在收集容器中事先装 5%~20%、pH 7-9 的缓冲液（如 1 M Tris-HCl 或 1 M 磷酸缓冲液），以利于维持抗体的生物活性，避免抗体失活。
- 3) 使用时保证柱子和缓冲液的温度一致，避免柱床内产生气泡，影响纯化效果，如果已经产生气泡，可以自行重装柱子。
- 4) 通常（每次）目标样品洗脱后应继续用 0.1 M 柠檬酸缓冲液（pH 2~3）洗 3~5 个柱体积，然后用平衡缓冲液清洗 5 个柱体积以上，作简易再生。
- 5) 使用数次后应进行在位清洗，建议用 0.1% Triton X-100 37℃洗 1-3 个柱体积（10~30min），立即用平衡缓冲液清洗 5 个柱体积以上；或 70%乙醇洗 5 个柱体积以上（可保持 4~16h），再用平衡缓冲液清洗 5 柱体积以上。在位清洗能去除强疏水性蛋白质和脂类，恢复柱子的载量和流速。