

## 耐碱蛋白 A 琼脂糖凝胶 FF

**品名：**耐碱蛋白 A 琼脂糖凝胶 FF(Alkali-tolerant Protein A SePharose Fast Flow, Alkali-tolerant Protein A SePharose FF)

**目录号：**BN26137、BN26305（中压预装柱）、BN26306（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：

耐碱蛋白 A 琼脂糖凝胶 FF 与普通的蛋白 A 琼脂糖凝胶相比，主要提高了凝胶的耐碱性，可以用 0.1~0.5M NaOH 溶液清洗和去除热源。在骨架与重组耐碱蛋白 A 键合上分别设计了延伸碳臂和定向结合位点，保证了重组耐碱蛋白 A 与骨架的定向牢固键合，以及与抗体的高效亲和，在载量上也明显优于普通蛋白 A 填料。

### 技术指标：

基质	4%高度交联琼脂糖凝胶
配基	重组耐碱蛋白 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
工作（清洗）pH 值	3~11(2~13)
耐反压	0.3 MPa
载量	≥40 mg/ml IgG

### 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 耐碱蛋白 A 琼脂糖凝胶 FF 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 NaOH 溶液再生清洗；
- 7) SDS-PAGE（图 1）电泳分析洗脱下来的兔多抗纯度在 95%以上。

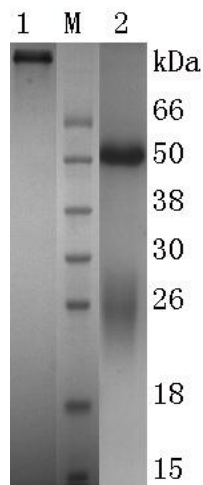


图 1

**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，如果已经产生气泡，可以自行重装柱子。
- 4) 使用后应进行在位清洗，一般建议用 0.1M NaOH 清洗 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。
- 5) 更高要求（消毒、去内毒素、超牢固蛋白残留等）的在位清洗，可以先用含还原剂（如 100mM DTT、 $\beta$ -ME 或 1-巯基甘油）的平衡缓冲液清洗 3~5 个柱体积，再用 0.1~0.5M NaOH 洗 1~5 个柱体积（10~30min），然后用无菌无内毒素的平衡缓冲液清洗 5 个柱体积以上。
- 6) 虽然本产品具有较好的碱耐受性，但长期使用较高的 NaOH 浓度（如 0.5mol/L）清洗仍会缩短使用寿命，建议每 1~3 次用 0.1M NaOH 清洗 1 次，每 5~20 次用 0.5M NaOH 清洗 1 次。
- 7) 为了更好的保护填料，应避免强烈的 pH 变化，建议酸性洗脱目的抗体后，用平衡缓冲液恢复至中性，再进行 NaOH 清洗。
- 8) 本产品具有极低的配基脱落率（ $<10$  ng/mg IgG），结合耐碱特性，特别适用于单克隆抗体的生产。但实验发现长期储存后首次使用配基脱落率会比较高，建议长期储存后的首次使用，先用酸性洗脱液清洗 3~5 个柱体积，再用平衡缓冲液平衡和样品纯化。