

Protein A Agarose Resin {Protein A亲和层析纯化凝胶}

货号: BR00073

规格: 50 mL

◆ 产品简介

Protein A Agarose 适用于分离纯化腹水、细胞培养上清、血清来源的单抗、多抗及 Fc 标签蛋白等。

◆ 介质性能参数

介质	高刚性琼脂糖
粒径范围	45-165 μm
平均粒径 D50	75 $\pm$ 5 μm
结合载量 (DBC)	≥ 55 mg (人IgG) / mL
工作pH	3-12
保存液	20%乙醇
贮存条件	2°C-8°C

注:

1. 介质的结合载量会因样本的来源和亚型的变化而变化。
2. 介质如果长时间浸泡在洗脱液中, 会导致配基水解, 最终影响介质载量。

◆ Protein A 和 Protein G 与不同种属 IgG 的结合强度

种类	亚类	Protein A	Protein G
人	IgA	可变	-
	IgD	-	-
	IgE	-	-
	IgG ₁	++++	++++
	IgG ₂	++++	++++
	IgG ₃	-	++++
	IgG ₄	++++	++++
	IgM	可变	-
豚鼠	IgG ₁	++++	++
	IgG ₂	++++	++
仓鼠	/	+	++
小鼠	IgG ₁	+	++++
	IgG _{2a}	++++	++++
	IgG _{2b}	+++	+++

	IgG ₃	++	+++
	IgM	可变	-
大鼠	IgG ₁	-	+
	IgG _{2a}	-	++++
	IgG _{2b}	-	++
	IgG ₃	+	++
兔	/	++++	+++
禽蛋黄	IgY	-	-
狗	/	++	+
猪	/	+++	+++
马	/	++	++++
牛	/	++	++++
绵羊	/	-/+	++
山羊	/	-	++
猴子	/	++++	++++
骆驼	/	-	+
熊	/	-	+
“-”: 不结合 “+”: 弱结合 “++”: 结合 “+++”: 中等结合 “++++”: 强结合			

◆ 产品特点

1. 快速、简单（一步纯化）；
2. 载量高、流速快、易于放大；
3. 与 Protein G 相比，结合力相对较弱，更容易洗脱，也能更好的维持抗体的滴度。

◆ 溶液制备

1. 平衡液: 0.02 M PB、0.15 M NaCl, pH 7.0-7.4。
2. 洗脱液: 0.1 M 柠檬酸缓冲液, pH 3.0。
3. 中和液: 1.0 M Tris-HCl, pH 9.0。

◆ 样品制备

1. 样品所在溶液要和平衡液保持一致，可以用平衡液进行裂解、透析/超滤/G25 进行缓冲液置换。
2. 样品过滤（平均粒径 < 45 μm，用 0.22 μm 过滤；45 μm < 平均粒径 < 165 μm，用 0.45 μm 过滤；平均粒径 > 165 μm，用 0.8 μm 过滤）。

◆ 纯化流程

1. 采用液滴对液滴（避免引入气泡）的方式将柱子连接到层析系统上。
2. 用纯化水以 5 mL/min 的流速冲洗 5 个 CV。
3. 用平衡液以 5 mL/min 的流速冲洗 10 个 CV。
4. 将样品以 5 mL/min 的流速上样。
5. 用平衡液以 5 mL/min 的流速冲洗至紫外吸收值平稳（10-15 个 CV）。
6. 用洗脱液以 5 mL/min 的流速洗脱 10 CV。
7. 用纯化水以 5 mL/min 的流速冲洗 5 个 CV。
8. 用 20%乙醇以 5 mL/min 的流速冲洗 5 个 CV。。

◆ **清洗（取决于待偶联样品的稳定性）**

1. 用 0.1 M NaOH 缓慢冲洗不低于 5 CV。
2. 用纯化水冲洗至 pH 中性。
3. 用 20%乙醇冲洗 3 CV，4℃保存。

◆ **常见问题及解决方案**

问题	可能原因	解决方案
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	1. 上样量过载	降低上样量
	2. 上样流速过快	降低上样流速
	3. 蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质或更换新的介质
	4. 目标物和介质结合力弱	确认IgG来源及亚型，选择正确的介质
	5. 纯化时选择的缓冲液不合适	确认样本中的pH，结合力弱的目标物可以通过调高pH（8-9）和增加盐浓度（1-3 M NaCl）来提高样本和介质的结合力
洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物	1. 目标物没有与介质结合或结合量较少	先确认目标物是否与介质结合
	2. 洗脱条件不合适	降低洗脱液pH至2.5-3.0
	3. 洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	4. 洗脱体积过小	加大洗脱体积
目标物纯度较低	1. 样品没有经过前处理	根据样品的来源，上柱前必须要经过离心、过滤或稀释
	2. 样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低样品粘度和浓度
	3. 洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4. 杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5. 目标物出现降解	注意样本纯化前后的保存条件，不得在高温、过酸、过碱条件长时间放置
	6. 柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	7. 分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积

	8.介质中有微生物生长	介质使用完后, 请及时正确保存介质
介质载量下降	1.上样流速过快	降低上样流速
	2.蛋白或脂类在介质中聚集, 导致载量下降	及时清洗介质
	3.使用次数过多, 配基逐渐脱落	更换新介质
色谱峰上升过陡	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰上升过缓或拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡, 重新装柱
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2.分离柱中微生物生长	所用试剂必须经过过滤和脱气; 样品上柱前必须离心或过滤