中科森辉微球技术(苏州)有限公司
苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 #713, 邮编: 215123
电话: 0512-8686 7755；传真：0512-86867758
www.senhuimicrosphere.com

耐碱 Protein A 亲和层析介质产品说明书

中科森辉微球技术（苏州）有限公司

耐碱 Protein A 亲和层析介质产品说明书

1. 产品简介

Protein A 能特异性地与抗体的 Fc 区结合，所以 Protein A 亲和介质可用于抗体（单抗和多抗）的分离纯化，经过一步亲和层析，即可从腹水、血清和培养液等样品中得到高纯度的抗体。耐碱 Protein A QZT 4FF 亲和介质以高流速琼脂糖凝胶为基质，以耐碱的重组 Protein A 为配基，采用定点偶联的方法偶联配基，介质具有优异的物理化学稳定性，配基不易脱落，使用寿命长。配基具备良好的耐碱性能，可以满足层析在线清洗操作中使用氢氧化钠溶液的需要。介质使用方便，应用广泛。

2. 产品特性

耐碱 Protein A QZT 4FF 亲和介质的理化性质、产品特性及与各种抗体的结合能力如表 1 与表 2 所示。

表 1 Protein A QZT 4FF 亲和介质的理化性质和产品特性

参数	指标
基质	4%交联琼脂糖凝胶
配基	耐碱 Protein A
形状	球形
介质平均粒径	90 μm，分布 45-165μm
配基密度	5.0-7.0 mg Protein A/ml wet gel
动态载量	45-75 mg h-IgG/ml wet gel
最高流速（25℃）*	1000 cm/h
推荐流速	<150 cm/h
最高耐压*	0.1 MPa (1 bar)
pH 稳定性	3-10（长时间）；2-11（短时间）
保存	4-8 ºC（20%乙醇）

表 2 不同种类抗体与 Protein A 和 Protein G 的相对结合强度

种类	亚类	Protein A 结合	Protein G 结合
人	IgA	可变的	-
	IgD、IgE	-	-
	IgG1、IgG2	++++	++++
	IgG3	-	++++
	IgG4	++++	++++
	IgM	可变的	-
鸟蛋黄	IgY	-	-
牛	IgG	++	++++
狗	IgG	++	+
羊	IgG	-	++
几内亚猪	IgG2	++++	++
仓鼠	IgG	+	++
马	IgG	++	++++
树袋熊	IgG	-	+
骆驼	IgG	-	+
猴（恒河猴）	IgG	++++	++++
小鼠	IgG1	+	++++
	IgG2a	++++	++++
	IgG2b	+++	+++
	IgG3	++	+++
	IgM	可变的	-
猪	IgG	+++	+++
兔	IgG	++++	+++
大鼠	IgG1	-	+
	IgG2a	-	++++
	IgG2b	-	++
	IgG3	+	++
绵羊		+/-	++

3. 使用方法

耐碱 Protein A QZT 4FF 广泛用于各种抗体的分离纯化。层析操作通常包括装柱、平衡、进料、淋洗、洗脱、再生等步骤。

平衡：用 5-10CV 的平衡缓冲液（20 mM PB+0.15 M NaCl，pH 7.0，添加适当浓度的 NaCl 抑制非特异性吸附）平衡层析柱，至流出液电导和 pH 不变（与平衡液一致）。

进料：样品缓冲液应尽可能与平衡液一致。固体样品可用平衡液溶解配制；低浓度样品溶液可用平衡液透析；高浓度样品溶液可用平衡液稀释。为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或微滤（0.45 μm）处理。进料量根据介质的载量和料液中目标蛋白的含量计算。

淋洗：上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线。

洗脱：用洗脱缓冲液（20 mM 柠檬酸，pH 3.0；或 0.1 M 甘氨酸，pH 3.0；或 20 mM 乙酸钠，pH 3.0；具体洗脱条件与抗体的结合强度和稳定性密切相关，效果不好时应进行洗脱缓冲液（种类和 pH 或添加剂）的优化）洗脱，收集流出液。洗脱后，应立刻用碱性缓冲液（如 1 M Tris/HCl, pH 9.0）将收集到的抗体溶液中和到抗体稳定的 pH，避免抗体失活，维持抗体的生物活性。

再生、原位清洗：介质使用数次（5-10 次，具体次数与原料的种类和来源及实验要求有关；对于抗体生产，（根据客户使用要求）一般每次使用后都要清洗）后，需要对介质进行再生、原位清洗。

（1）用 0.1 M 的乙酸或 0.1 M 的乙酸/20%乙醇淋洗柱子 3-5 CV，然后用缓冲液洗到中性即可重复使用；

（2）也可用 0.1-0.5 M NaOH 淋洗柱子 3-5 CV，并用 3-10 CV 的纯水冲洗，然后用缓冲液洗到中性即可重复使用。

其它注意事项：在装柱、使用和保存柱子的时候，要避免柱子流干或密封不严，防止气泡进入。

4. 具体应用

载量分析：利用人免疫球蛋白（血浆来源，纯度 95%，3 mg/ml）进行载量分析（柱体积 0.5 ml；Buffer A：20 mM PB+0.15 M NaCl，pH 7.0，Buffer B：0.1 M 甘氨酸，pH 3.0；流速：0.1 ml/min；上样量：20 ml），层析谱图如图 1 所示，结果表明介质载量在 45-75 mg h-IgG/ml 介质。

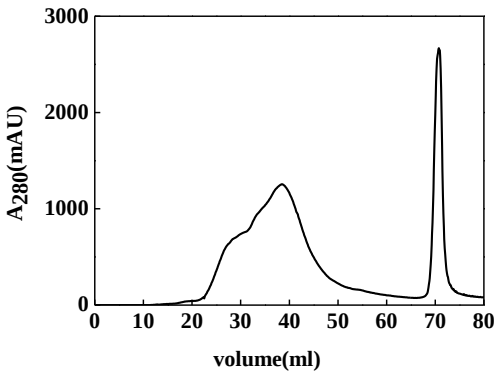


图 1 h-IgG 在耐碱 Protein A 介质上的动态穿透曲线

5 特色服务

（1）提供介质筛选及工艺开发的咨询。

（2）接受客户委托开发各种分离介质和分离工艺。

（3）按客户要求提供各种规格的预装柱。

（4）为客户提供专业的售前和售后服务。

有关当地办事处的联系信息，请联系销售公司

销售/服务公司：中科森辉微球技术（苏州）有限公司

售后服务电话：0512-86867755 / 010-82544957　　传真：　0512-86867758 / 010-82544957

Email：techsupport@senhuimicrosphere.com

网址：www.senhuims.com

地址：苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢　713 室