

## M5 Protein A Agarose 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Protein A Agarose	1ml	MF099-A-01
M5 Protein A Agarose	5ml	MF099-A-05

### 【STORAGE】

Store at 4°C. Stable for one year from the date of shipment.

### 【产品简介】

本产品可从血清、腹水、细胞培养上清和细胞抽提物中分离和纯化多种哺乳动物不同亚型的抗体或包含抗体 Fc 片段的基因工程重组蛋白。具有高 IgG 结合特异性、高流速、低 Protein A-Agarose 脱落等特点。

### 【注意事项】

1. 凝胶从冷室或冰箱中取出后在室温下缓慢振摇恢复到室温后装柱，避免产生气泡影响柱效。
2. 装柱时尽可能维持凝胶长径比为 5:3-2:1，长径比过大将导致洗脱峰拖尾，洗脱体积增大；长径比过小将导致样品与填料接触时间短，吸附不充分，填料吸附蛋白量少。
3. 若上样液中抗体浓度过高，应使用平衡缓冲液稀释至 1-2 mg/ml，抗体浓度过高影响柱效。
4. 可以采用降低上样时的流速来增加样品与填料接触时间从而提高纯化抗体量。
5. 凝胶用低 pH 缓冲液洗脱时间应尽可能短，洗脱后用中性缓冲液尽快中和至 pH 中性，以延长亲和介质的使用寿命。
6. 洗脱后，应立刻用如中和缓冲液将收集到的抗体溶液中和到中性（pH7.4 左右），以利于维持抗体的生物活性，避免抗体失活。
7. 填料使用后应用 0.1 M 柠檬酸钠缓冲液（pH3.0）做再生处理，长期采用极端的洗脱条件将缩短亲和介质的使用寿命。

### 【操作步骤】

#### A、缓冲液的准备

1. 平衡缓冲液：纯化不同动物和不同亚型抗体时所用平衡缓冲液是不同的，部分参照如下。

抗体	平衡缓冲液成分
人 IgG1、人 IgG2、小鼠 IgG2a、小鼠 IgG2b	20 mM PBS, 300 mM NaCl, pH7.4-8.5
人 IgG3、人 IgG4、小鼠 IgG1、大鼠 IgG3	50 mM Tris-Cl, 3 M NaCl, pH7.8-8.5

2. 洗脱缓冲液：0.1 M 柠檬酸钠缓冲液，pH4.0。
3. 再生缓冲液：1 M NaCl。
4. 中和缓冲液：1 M Tris-Cl, pH9.0。

注意：1) 以上缓冲液使用前均需 0.45 μm 滤膜过滤。

2) 为提高抗体和介质的吸附力。可适当提高平衡缓冲液中的盐浓度和 pH 值。

## B、样品的准备

1. 样品用平衡缓冲液稀释 5-10 倍。
2. 细胞培养液中大量的血清蛋白会对亲和层析造成一定的干扰，去血清处理或稀释样品将提高纯化抗体收率。

**注意：样品在上柱前需 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤。**

## C、操作步骤

1. 将 Protein A-Agarose 填料混匀后加入层析柱，室温静置 10 分钟，待凝胶与溶液分层后，把底部的出液口打开，让乙醇通过重力作用缓慢流出。
2. 向装填后的柱中加入 3-5 个柱床体积的超纯水将乙醇冲洗干净，用平衡缓冲液流洗 5-10 个柱床体积平衡柱子。
3. 将样品上柱，上样流速 60 cm/h。
4. 平衡缓冲液再洗 5-10 个柱床体积，直至基线平稳。
5. 洗脱缓冲液洗脱，收集洗脱峰，用中和缓冲液将洗脱收集样品中和到中性。
6. 立即用 5-10 个柱床体积平衡缓冲液平衡柱子到中性。
7. 再生缓冲液流洗 3-5 个柱床体积。先后用纯水、20%乙醇分别流洗 3-5 个柱床体积。柱子置于 2-8 $^{\circ}\text{C}$  保存。

**注意：收集洗脱峰时可以分阶段收集到多个管中，最后根据测定结果重新调整收集方式。**

8. 本产品使用 10 次以上后先用 20%乙醇洗 5 个柱床体积，再用 70%乙醇洗脱 5-10 个柱床体积，再用 20%乙醇流洗 3-5 个柱床体积。柱子置于 2-8 $^{\circ}\text{C}$  保存。

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。