



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

琼脂糖凝胶亲和层析介质 rProteinA

货号: R32872

规格: 2ml

保存温度: 2-8℃保存, 有效期 12 个月。

产品介绍:

Protein A 是一种分离自金黄色葡萄球菌的细胞壁蛋白, 主要通过 Fc 片段结合哺乳动物 IgG, 但是不与狗 IgG 结合, 不结合人 IgM、IgD 和 IgA。蛋白 A 与蛋白 G 不同来源及亚类的免疫球蛋白结合能力不一样, 具体见表。天然 Protein A 有五个 IgG 结合区域和一些未知功能的区域, 重组 protein A 去除了与白蛋白及细胞表面结合位点, 只含有五个 IgG 结合区域, 减少了非特异性吸附。

rProtein A Beads 产品性能:

指标	性能
基质	4%琼脂糖微球
配体	重组蛋白 A
载量	>40mg 人 IgG/mL 介质
粒径(μ m)	45- 165
最大流速	0.1MPa,1bar
pH 稳定范围	3- 10
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8° C

ProteinA 和 ProteinG 对不同抗体的结合能力:

种属	亚型	Protein A	Protein G
Human	IgA	variable	—
	IgD		
	IgE		
	IgG1	++++	++++
	IgG2	++++	++++



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

	IgG3		++++
	IgG4	++++	++++
	IgM	variable	
Avianegg yolk	IgY	—	—
Cow		++	++++
Dog		++	+
Goat			++
Guineapig	IgG1	++++	++
	IgG2	++++	++
Hamster		+	++
Horse	TotalIgG	++	++++
Koala		—	+
Liama			+
Monkey(rhesus)		++++	++++
Mouse	IgG1	+	++++
	IgG2a	++++	++++
	IgG2b	+++	+++
	IgG3	++	+++
	IgM	variable	—
Pig		+++	+++
Rabbit	TotalIgG	++++	+++
Rat	IgG1	—	+
	IgG2a		++++
	IgG2b		++
	IgG3	+	++
Sheep	TotalIgG	+/-	++

++++=结合能力强; ++=结合能力中等; —=结合能力弱或没有结合

纯化流程:

1、Buffer 的准备



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

结合/洗杂 Buffer: 0.15MNaCl, 20mMNa₂HPO₄, pH7.0

洗脱 Buffer: 0.1M 甘氨酸, pH3.0

中和液: 1MTris-HCl, pH8.5

2、样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 可以用结合/洗杂缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用结合/洗杂缓冲液透析。

样品在上样前建议离心或用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤, 减少杂质, 提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3、样品纯化

1) 将 rProtein A Beads 装入合适的层析柱, 层析用 5 倍柱体积的结合 Buffer 进行平衡, 使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下, 起到保护蛋白的作用。

2) 将样品加到平衡好的 rProtein A Beads 中 (保证目的蛋白与 rProtein A Beads 充分接触, 提高目的蛋白的回收率), 收集流出液。

3) 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗, 去除非特异性吸附的杂蛋白, 收集洗杂液。

4) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer, 收集洗脱液, 即目的蛋白组分。

5) 依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料, 最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡, 然后保存在等体积的 20% 的乙醇中, 置于 4 度保存, 防止填料被细菌污染。

4、SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品 (包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分) 以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

填料清洗:

rProtein A Beads 可以重复使用而无需再生, 但随着一些变性物质的沉淀和蛋白的聚集, 往往造成流速和结合载量都下降, 严重影响柱子的性能, 这时需要对树脂进行清洗。

去除一些沉淀或变性物质



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

用 2 倍柱体积的 6M 盐酸胍溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS,pH7.4 清洗。

去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 2 倍柱体积的 1%TritonX-100 清洗，然后然后立即用 5 倍柱体积的 PBS,pH7.4 清洗。

