**Protein A 亲和层析材料**

**1、产品描述**

Geneharbor Protein A 亲和层析材料适用于从生物体液或细胞培养液中快速、简便和特异地纯化单抗或多抗免疫球蛋白及其亚基或者片段，特别适合人IgG1、IgG2、IgG4和小鼠IgG2A的纯化。

本产品创新性地采用无机材料作为基质，可以比琼脂耐受更大的压力尤其是亲和层析柱层析，价格大幅低于市售同类产品，可一次性使用，操作方便成本低廉亦可再生反复使用 。

|  |
| --- |
| **产品性质** |
| 基质  | 无机材料  |
| 粒径  | 700-1000目，~10-50μm  |
| 亲和材料  | 重组 Protein A  |
| pH 范围  | 3-10  |
| 温度  | 4 ℃ ~ 室温  |
| 静态吸附能力  | ＞40 mg IgG/g  |
| 动态吸附能力  | 动态吸附能力因目标抗体、流速等因素而异  |
| Protein A 流失率  | <10μg/g  |
| 储存缓冲液 | 0.2M 磷酸钠缓冲液 pH 7.2 w/ 0.02% 叠氮化钠 |

**运输与保存方法**

冰袋运输。4℃保存，1年有效。

**2、纯化步骤**

**缓冲液制备：**

建议以下缓冲液使用前用0.45μm 滤膜过滤一遍，用于配制的水和试剂需要高纯度。

* 结合液： 0.1M 磷酸钠缓冲液 + 0.15M 氯化鈉 pH 7.2
* 清洗液： 0.05M 甘氨酸-盐酸缓冲液 pH 5
* 洗脱液： 0.1M 甘氨酸-盐酸缓冲液 pH 3.3
* 储存缓冲液： 0.2M 磷酸钠缓冲液 pH 7.2 w/ 0.02% 叠氮化钠

**样品制备：**

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

**纯化：**

50mg 亲和层析材料可纯化 1-2mg IgG抗体，回收率⼀般为70%或以上，IgG抗体量不少于0.5mg操作进⾏时建议于低温下进行

1. 取出亲和层析材料，8000rpm离⼼1min，弃去上清溶液
2. 加⼊1.5ml结合液，震荡30sec，8000rpm离⼼1min，弃去上清溶液
3. 加⼊1.5ml结合液，震荡30sec，8000rpm离⼼1min，弃去上清溶液
4. 结合液以溶量1:1的⽅式加⼊抗体样本
5. 加⼊亲和层析材料⾄以混⼊结合液的抗体样本并混合5min
6. 低温中（摄⽒4-8度）3000rpm离⼼3min，弃去上清溶液
7. 加⼊15ml清洗液，震荡1-2min
8. 低温3000rpm离心3min，取上清溶液，检测上清溶液的蛋白量，重复步骤一到两次至上清溶液检测不到蛋白量
9. 加⼊0.5ml洗脱液，震荡30sec
10. 8000rpm离心3min，取上清溶液，上清溶液即为已纯化IgG/抗体（若长期存放建议加入10ul的1M TRIS-HCl pH8.0缓冲液）
11. 重复9到10⾄上清溶液检测不到IgG/抗体
12. 弃丢亲和层析材料

**蛋白A，G对不同物种Ig的结合能力总表**

| **免疫球蛋白类型** | **Protein A** | **Protein G** | **免疫球蛋白类型** | **Protein A** | **Protein G** |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Human IgG | ++++ | ++++ | Mouse IgG | ++++ | ++++ |
| Human IgG1 | ++++ | ++++ | Mouse IgG1 | + | ++++ |
| Human IgG2 | ++++ | ++++ | Mouse IgG2a | ++++ | ++++ |
| Human IgG3 | **+** | ++++ | Mouse IgG2b | +++ | +++ |
| Human IgG4 | ++++ | ++++ | Mouse IgG3 | ++ | +++ |
| Human IgM | - | - | Mouse IgM | + | - |
| Human IgE | + | + | Chicken IgY | - | - |
| Human IgA | **+** | - | Goat IgG | + | ++++ |
| Human IgA1 | **+** | - | Goat IgG1 | + | ++++ |
| Human IgA2 | **+** | - | Goat IgG2 | ++++ | ++++ |
| Human IgD | **+** | - | Guinea Pig IgG | ++++ | ++ |
| Rat IgG | + | ++ | Guinea Pig IgG1 | ++++ | ++ |
| Rat IgG1 | + | + | Guinea Pig IgG2 | ++++ | ++ |
| Rat IgG2a | - | ++++ | Rat IgG3 | + | ++ |
| Rat IgG2b | - | **+** | Horse IgG | + | ++++ |
| Rat IgG2c | ++++ | ++++ | Rabbit IgG | ++++ | +++ |
| Bovine IgG1 | + | ++++ | Rabbit All isotypes | **+++** | **++** |
| Sheep IgG | + | ++ | Monkey IgG | ++++ | ++++ |
| **免疫球蛋白类型** | **Protein A** | **Protein G** | **免疫球蛋白类型** | **Protein A** | **Protein G** |
| Sheep IgG1 | + | ++ | Donkey IgG | ++ | ++++ |
| Sheep IgG2 | + | ++ | Hamster IgG | **+** | **++** |
| Pig IgG | +++ | ++ | Dog IgG | +++ | **+** |
| Cat IgG | ++++ | **+** | Koala IgG |  | + |
| Cow IgG | ++ | ++++ | Llama IgG |  | **+** |
| Cow IgG1 | + | +++ |  |  |  |
| (+)= weak binding; (++)= moderate binding; (++++)= strong binding; (-)= no binding; |