# Protein A 琼脂糖磁珠

Magrose Protein A Antibody Purification Beads

**产品货号：** M7412S, M7412M, M7412L

**产品规格：** 1 mL, 10% (v/v), 30-150 μm; 5 mL, 10% (v/v), 30-150 μm; 100 mL, 10%(v/v), 30-150 μm

**储存条件：** 2~8°C保存，有效期见外包装

## 产品介绍

本产品是由NHS活化的超顺磁性微球与Protein A共价结合形成的复合微粒。与当前国际免疫磁珠市场上同类产品相比，该产品具有更高的抗体结合能力和较低的蛋白非特异吸附率，洗脱条件更均一，一步纯化即可从血清样品中分离出纯度大于90%的抗体。本产品为微米级磁性微球，熟练操作可在15 min内完成抗体吸附过程，30 min内完成抗体纯化流程。本产品可重复使用，适用于血浆、腹水、组织培养上清液等样品中的抗体纯化，也可用于抗体固定及其它相关研究。表1为磁珠基本信息。本品与不同抗体的亲和性比较参见附表1。

**表 1. Protein A 琼脂糖磁珠基本信息**

| | |
|---|---|
| **产品名称** | Protein A 抗体纯化磁珠 |
| **磁珠粒径** | 30~150 μm |
| **磁珠浓度** | 10%（V/V） |
| **配基** | Protein A |
| **介质** | Magrose |
| **抗体结合能力（mg Human IgG/mL Gel）** | 25~30 |
| **结合洗涤液** | PBST (pH ( 7.2~7.4): 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM $Na_2HPO_4$, 2.0 mM $KH_2PO_4$, 0.1% Tween-20) |
| **洗脱液** | 100 mM Gly, 0.1% Tween-20, pH 2.5 |
| **中和液** | 1.0 M Tris-HCl, pH 9.0 |
| **保存液** | PBST, 0.1% (V/V) Proclin 300 |

## 实验步骤

1. 样品处理：取人血清100 μL至1.5 mL EP管中，接着加入900 μL结合洗涤液，充分混匀。

2. 磁珠预处理：将抗体纯化磁珠漩涡振荡30 s，使磁珠充分重悬；取200 μL 10%（V/V）磁珠悬液置于另一新的1.5 mL EP管中。对磁珠悬液进行磁性分离，弃上清液，用1 mL结合洗涤液洗涤2次，磁性分离，管中磁珠可直接用于抗体分离。

注：该步骤磁珠的用量可根据磁珠对目标抗体的最大结合量进行调节，当目标抗体的浓度大于150 μg/mL时，用户可取1.2~1.5倍磁珠用量（计算方式：如1.5×样品中目标抗体含量/磁珠最大结合量），若目标抗体浓度过低，如低于70 μg/mL时，客户为了提高抗体回收率，可增加磁珠用量，如提高至3倍磁珠用量。



本产品仅用于科研

**UElandy Inc.**
Tel:0512-88965152
Web:www. uelandy.com

3. 抗体吸附：在步骤2预处理的磁珠管中加入步骤1处理的样品溶液，漩涡振荡均匀，在室温下（约25℃）置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转EP管，促使样品和磁珠充分接触并吸附，翻转约15 min后进行磁性分离，移弃上清液。

4. 磁珠洗涤：向 EP 管中加入1 mL结合洗涤液，振荡重悬磁珠后进行磁性分离，移弃上清液；该操作重复3次。

5. 抗体洗脱：在上述完成磁珠洗涤的EP管中加入0.5~1.0 mL洗脱液，用移液器吹打或者涡旋震荡下迅速重悬，然后在室温下（约25℃）置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转 EP 管，翻转10 min后进行磁性分离，收集上清液至新的EP管。

注意事项：该步骤洗脱液用量，建议客户使最终洗脱的抗体浓度控制在0.6~1.2 mg/mL，此时第1次洗脱条件中95%以上的抗体将被洗脱下来；若洗脱液 用量过少，会导致部分抗体在第1次洗脱时仍然留在磁珠上，从而导致抗体回收率降低。

6. 抗体中和：在步骤5抗体洗脱液中加入一定量的中和液，一般为抗体洗脱体积的1/10，最终使洗脱的抗体pH值保持中性环境，以利于维持抗体的生物活性，避免抗体失活。

7. 磁珠后处理：使用后的磁珠用洗脱液洗涤2次，磁性分离，弃上清液；接着用结合洗涤液洗涤3次，磁性分离，弃上清液，加入200 μL保存液重悬磁珠，置于2~8℃保存。

8. 磁珠再生

（1）磁珠多次使用后会有沉淀蛋白、强疏水性蛋白、脂蛋白等杂质非特异性吸附到磁珠上，为了保证磁珠的使用效率，建议持续使用5次后进行磁珠再生处理。

（2）按约每1 mL 10%（V/V）磁珠加入1 mL 1%（V/V）Triron X-100磁珠再生缓冲液，振荡均匀，在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转混合，10 min后进行磁性分离，弃上清液。

（3）立即加入1 mL结合洗涤液 进行重悬，然后磁性分离，弃上清液，重复该操作3次。

（4）加入1 mL保存液 重悬磁珠，置于2~8℃保存。

## 注意事项

1. 进行抗体纯化操作之前，请务必认真阅读本操作说明书。
2. 本产品须与磁性分离器配套使用。
3. 磁珠使用前应充分振荡均匀。
4. 磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
5. 请勿将磁珠冷冻或离心，以免引起不可逆聚集。



本产品仅用于科研

UElandy Inc.
Tel:0512-88965152
Web:www. uelandy.com

附表 1. Protein A 与不同来源及类型的抗体亲和性比较

| 物种 | 类型 | Protein A结合 |
|---|---|---|
| 人 | IgA | 可变 |
| | IgD | - |
| | $IgG_1$ | ++++ |
| | $IgG_2$ | ++++ |
| | $IgG_3$ | - |
| | $IgG_4$ | ++++ |
| | IgM | 可变 |
| 小鼠 | $IgG_1$ | + |
| | $IgG_{2a}$ | ++++ |
| | $IgG_{2b}$ | +++ |
| | $IgG_3$ | ++ |
| | IgM | 可变 |
| 大鼠 | $IgG_1$ | - |
| 大鼠<br>奶牛 | $IgG_{2a}$ | - |
| | $IgG_{2b}$ | - |
| | $IgG_3$ | - |
| | IgG | ++ |
| 山羊 | IgG | - |
| 绵羊 | IgG | - |
| 马 | IgG | ++ |
| 兔 | IgG | ++++ |
| 猪 | IgG | +++ |
| 豚鼠 | $IgG_1$ | ++++ |
| 豚鼠 | $IgG_2$ | ++++ |
| 仓鼠 | IgG | + |
| 猕猴 | IgG | ++++ |
| 禽卵黄 | IgY | - |
| 狗 | IgG | ++ |
| 考拉 | IgG | - |
| 羊驼 | IgG | - |

注: “+”=结合能力弱，“+++”=结合能力中等，“+++++”=结合能力强，“-”=无法结合



本产品仅用于科研

UElandy Inc.
Tel:0512-88965152
Web:www. uelandy.com