

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

Protein A 琼脂糖磁珠 (10-30 μm)

Magrose Beads Protein A (10-30 μm)

产品描述

TargetMol Protein A 琼脂糖磁珠 (10-30 μm) 是一种抗体纯化磁珠，利用了生物纳米表面技术，使 Protein A 高密度定向包被到 NHS 活化的超顺磁性微球表面通过共价结合而形成的复合微粒。

TargetMol Protein A 琼脂糖磁珠 (10-30 μm) 具有超大比表面积，可大幅度缩短抗体吸附所需的时间。熟练操作可在 10 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。用户可根据目标抗体的种属来源及亚型选择磁珠的类别。

产品特点

- 抗体结合能力极高，非特异性吸附能力极低。
- 操作省时、简便、温和。无需离心，利用磁性分离，极大缩短操作时间；避免离心的机械剪切力对活性蛋白的损伤；避免反复吸液造成填料损失和操作误差。
- 产品稳定性高，多次使用后抗体结合效率无明显衰减。
- 洗脱体系温和，在 pH 4.5 的条件下洗脱抗体，极大降低酸性敏感抗体在低 pH 值环境下受到损伤的风险。
- 配基脱落率极低。
- 磁珠可重复使用，再生操作简单。经再生处理后，抗体结合能力可恢复到最初的 90%。

产品信息

产品名称	Magrose Beads Protein A (30-150 μm) (C0106)	Magrose Beads Protein A (10-30 μm) (C0107)	Magrose Beads Protein G (C0108)
材质	琼脂糖	琼脂糖	琼脂糖
磁珠粒径范围	30-150 μm	10-30 μm	30-150 μm
浓度	10% (V/V)	10% (V/V)	10% (V/V)
抗体结合能力 (mg Human IgG/mL Gel)	25-30	40-45	25-30
配基	Protein A	Protein A	Protein G
保存液	PBST, 0.1% (V/V) Proclin 300	PBS, 0.1% (V/V) Proclin 300, 0.1% (W/V) BSA	PBST, 0.1% (V/V) Proclin 300

产品应用

- 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。

操作说明

1. 缓冲液准备

以下为常用的缓冲液成分，适用于多数蛋白的纯化，使用时可根据需要进行调整。缓冲液在使用前最好使用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤除菌。

- 1) Binding Buffer: PBST (pH 7.2~7.4): 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 2.0 mM KH₂PO₄, 0.1% Tween-20。
- 2) Elution Buffer: 100 mM Gly, 0.1% Tween-20, pH 2.0。
- 3) Neutralization Buffer: 1.0 M Tris-HCl, pH 9.0。

2. 样品准备

取 100 μL 人血清置于 1.5 mL EP 管中，加入 900 μL 结合洗涤液后，充分混合均匀。

3. 磁珠预处理

- 1) 蛋白纯化磁珠用漩涡振荡器振荡充分混匀。取 200 μL 10% (V/V) 磁珠悬液，转移到另一个新的 1.5 mL EP 管中。将 EP 管放入磁性分离器，静置 1 min，进行磁性分离，吸去上清液，取下离心管。
- 2) 使用 1 mL Binding Buffer 清洗 2 次，再次进行磁性分离。此时，管中的磁珠可直接用于抗体分离操作。
注：磁珠用量可根据磁珠对目标抗体的最大结合量进行调整。当目标抗体浓度高于 150 μg/mL 时，可使用 1.2~1.5 倍的磁珠量（计算方法：1.5*样品中目标抗体含量/磁珠最大结合量）。若目标抗体浓度较低，如低于 70 μg/mL，为了提高抗体回收率，可将磁珠用量增加至 3 倍。

4. 抗体吸附

- 1) 将步骤 2 处理后的样品溶液加入到步骤 3 预处理的磁珠管中，漩涡混匀。
- 2) 在室温（约 25°C）下，将 EP 管置于翻转混合仪中，或者手工轻轻翻转，使样品和磁珠充分接触吸附，翻转约 15 min。
- 3) 进行磁性分离，吸去上清液。取下离心管，进行后续的洗涤步骤。

5. 磁珠洗涤

向 EP 管中加入 1 mL Binding Buffer，振荡重悬磁珠后进行磁性分离，吸去上清液。重复洗涤步骤 3 次。

6. 抗体洗脱

- 1) 在已洗涤的磁珠管中加入 0.5~1.0 mL Elution Buffer，使用移液器轻轻吹打或涡旋震荡，使磁珠迅速重悬。
- 2) 在室温（约 25°C）下，将 EP 管置于翻转混合仪中，或手工轻轻翻转，翻转约 10 min。
- 3) 进行磁性分离，收集上清液至新的 EP 管中。
注：建议根据抗体的目标浓度，调整 Elution Buffer 的用量，使最终洗脱的抗体浓度在 0.6~1.2 mg/mL 范围内。这样可以确保在第一次洗脱过程中，95%以上的抗体被有效洗脱。如果 Elution Buffer 用量不足，部分抗体可能残留在磁珠上，影响抗体回收率。

7. 抗体中和

在步骤 6 洗脱的抗体溶液中，加入适量 Neutralization Buffer，通常为洗脱体积的 1/10，使最终抗体的 pH 值达到中性，维持抗体的生物活性，防止失活。

8. 磁珠后处理

- 1) 使用过的磁珠用 Elution Buffer 清洗 2 次，进行磁性分离，吸去上清液。
- 2) 接着用 Binding Buffer 清洗 3 次，再次进行磁性分离，吸去上清液后。
- 3) 加入 200 μL 保存液重悬磁珠，并在 2~8°C 条件下保存，可用于下一次同种蛋白的纯化。

9. 磁珠再生

随着磁珠的多次使用，沉淀蛋白、强疏水性蛋白和脂蛋白等杂质可能会非特异性地附着在磁珠表面。为了确保磁珠的使用效果，建议在连续使用 5 次后进行磁珠的再生处理。

- 1) 取每 1 mL 10% (V/V) 磁珠，加入 1 mL 1% (V/V) Triton X-100 Regeneration buffer，充分混合后，在室温下将其置于翻转混合仪或手动轻轻翻转混合，10 min 后进行磁性分离，吸去上清液。
- 2) 随即加入 1 mL Binding Buffer 重悬磁珠，再次进行磁性分离，吸去上清液。重复此步骤 3 次。
- 3) 加入 1 mL 保存液重悬磁珠，并在 2~8°C 条件下保存。

保存条件

4°C, 2 年。

注意事项

1. 避免对磁珠进行冷冻、干燥和高速离心等操作。
2. 为了减少磁珠的损失，每次磁性分离的时间不应少于 1 min。
3. 从磁珠保存管中取出磁珠之前，应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
4. 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管，以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
5. 本产品可以重复使用，当纯化性能降低时，建议进行再生处理。
6. 使用过的磁珠在重复使用时，建议继续纯化同种蛋白；如果要纯化不同种类的蛋白，建议使用新的磁珠。
7. 如果使用本试剂盒提供的缓冲体系未能获得理想的实验结果，操作者可以自行筛选和配制缓冲液进行实验。
8. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

附：Protein A 和 Protein G 与不同来源及类型的抗体亲和性比较

Species	Antibody Classes	Protein A	Protein G
Human	IgA	可变	-
	IgD	-	-
	IgG1	++++	++++
	IgG2	++++	++++
	IgG3	-	++++
	IgG4	++++	++++
	IgM	可变	-
Mouse	IgG1	+	++++
	IgG2a	++++	++++
	IgG2b	+++	+++
	IgG3	++	+++
	IgM	可变	-
Rat	IgG1	-	+
	IgG2a	-	++++
	IgG2b	-	++
	IgG3	-	++
Cow	IgG	++	++++
Goat	IgG	-	++
Sheep	IgG	-	++
Horse	IgG	++	++++
Rabbit	IgG	++++	+++
Pig	IgG	+++	+++
Guinea Pig	IgG1	++++	++
	IgG2	++++	++
Hamster	IgG	+	++
Rhesus	IgG	++++	++++
Avian yolk	IgY	-	-
Dog	IgG	++	+
Koala	IgG	-	+
Alpaca	IgG	-	+

注: “+++++” =strong binding, “+++” =medium binding, “+” =weak binding, “-” =no binding.

