



HiPur IgG 4FF

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 问题及解决方案.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

Rabbit IgG Beads 4FF 是以兔 IgG 为亲和配体，一步纯化原核表达系统产生的蛋白 A 融合产品。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。**Rabbit IgG Beads 4FF** 是以高度交联的 4% 琼脂糖凝胶为基质，可以在相对较高的流速下进行纯化。具体性能见表 1。

HiPur IgG 4FF 是一种中压预装柱，填充 20 ml 的 **Rabbit IgG Beads 4FF** 介质。柱管由生物相容性聚丙烯制成，不与生物分子相互作用。柱管两头都有堵头，防止保护液的泄露。柱体标签上的箭头表示推荐的流向。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中压色谱系统，如 ÄKTA 等，方便客户操作。

表 1. HiPur IgG 4FF 产品性能

性能	指标
规格	20 ml
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	兔 IgG
载量	>1 mg 蛋白 A/ml 介质
粒径范围	45-165 μm
最大耐压	0.3 MPa, 3 bar
柱尺寸 (内径×高度)	1.6×10 cm
储存缓冲液	0.02% 叠氮化钠, 1×PBS
储存温度	2-8℃

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

平衡/洗杂液：50 mM Tris, 0.15 M NaCl, 0.05% Tween-20, pH 7.6

洗脱液：0.5 M HAc, pH 3.0 或 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

中和液：1 M Tris-HCl, pH 8.5

2.2 样品准备

上柱前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用平衡/洗杂液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用平衡/洗杂液透析。样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

2.3 样品纯化

HiPur IgG 4FF 是一种纯化原核表达系统产生的蛋白 A 融合产品，可以用各种常规的中低压色谱系统，以 ÄKTA 仪器使用为例介绍 **HiPur IgG 4FF** 使用方法。

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中，打开下出口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。
- 2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液。
- 3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。
- 4) 利用泵或样品环上样。**注：**样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。
- 5) 用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积）。
- 6) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱，收集洗脱液，即目的蛋白组分。洗脱组分需要立即调成中性，一般建议使用洗脱组分体积 1/10 的中和液进行中和。



7) 介质洗脱结束后，用平衡液冲洗 5-10 柱体积，然后用纯水冲洗 5-10 个柱体积，再用含 0.02%叠氮化钠的 PBS 溶液冲洗 2 个柱体积，置于 2-8℃保存。

2.4 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。

3. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	筛板被堵塞	清洗或更换筛板
	填料被堵塞	裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜 (0.22 或 0.45 μm) 过滤，或者离心去除。
样品纯化过程中曲线不稳	样品或缓冲液中有气泡	去除样品或柱子中的气泡
		样品和缓冲液进行脱气
洗脱组分中没有目的蛋白	样品中蛋白浓度太低	延长接触时间或用树脂孵育结合
回收率逐渐减低	上样量太多	减少上样量
	柱子太脏，载量降低	再生清洗或更换介质

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
HiPur IgG 4FF	SA030C20	1×20 ml
HiSelect IgG 4FF	SA030C47	1×4.7 ml