



HiSelect 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，一步纯化原核系统表达的蛋白 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。

HiSelect IgG 4FF 是一种中压预装柱，填充 4.7 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. HiSelect IgG 4FF 产品性能

性能	指标
规格	4.7 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
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
柱尺寸 (内径×高度)	0.77×10 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

HiSelect IgG 4FF 是一种纯化原核系统表达的蛋白 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 **HiSelect IgG 4FF** 使用方法。

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上堵头，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	对柱子进行在位清洗
	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	延长接触时间或用介质孵育结合
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
HiSelect IgG 4FF	SA030C47	1×4.7 ml
HiPur IgG 4FF	SA030C20	1×20 ml