

## 抗体纯化磁珠 (Beads Magrose Protein A/ G Antibody Purification)

规格: 20T

保存: 2-8°C, 保质期 1 年

### 产品内容:

Beads Protein A/ G 抗体纯化磁珠系列产品是由 NHS 活化的超顺磁性微球与 Protein A/G 共价结合形成的复合微粒。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。用户可根据目标抗体的种属来源及亚型选择磁珠的类别, Magrose Protein A, Magrose Protein G 磁珠与不同抗体的亲和性比较参见下表。

### 产品特性:

产品名称	Magrose Protein A	Magrose Protein G
磁珠粒径	30~150 $\mu\text{m}$	30~150 $\mu\text{m}$
磁珠浓度	10% (v/v)	10% (v/v)
配基	Protein A	Protein G
介质	Magrose	Magrose
抗体结合能力	25~30 mg Human IgG/mL Gel	25~30 mg Human IgG/mL Gel
保存温度	2~8°C	2~8°C
Binding/Washing buffer	PBST (pH 7.2~7.4) : 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 2.0 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 0.1% Tween-20	
Elution buffer	100 mM Gly, 0.1% Tween-20, pH 2.5	
Neutrilization buffer	1.0 M Tris-HCl, pH 9.0	
Storage buffer	PBST (含 0.05% NaN <sub>3</sub> )	

### 适用范围:

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。

### 操作步骤(以纯化人血清 IgG 为例):

1、样品处理: 取人血清 100  $\mu\text{L}$  至 1.5 mL EP 管中, 接着加入 900  $\mu\text{L}$  Binding/Washing buffer, 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  $\mu\text{L}$  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 Binding/Washing buffer 洗涤 2 次, 磁性分离, 管中磁珠可直接用于抗体分离。

注意: 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结合量), 若目标抗体浓度过低, 如低于 70  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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。

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 Binding/Washing buffer，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 Elution buffer，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 Elution buffer 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 Elution buffer 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 Neutrilization buffer，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 Elution buffer 洗涤 2 次，磁性分离，弃上清液；接着用 Binding/Washing buffer 洗涤 3 次，磁性分离，弃上清液，加入 200  $\mu$ L Storage buffer 重悬磁珠，置于 2~8℃ 保存。

### **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 Binding/Washing buffer 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 Storage buffer 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。

6、本产品仅供研究使用。

## 常见问题及解答(FAQ)

Q1: 如何提高抗体与磁珠结合效率?

A1: 磁珠与抗体的结合效率与抗体的种属来源及所属亚型有关,请确认抗体的类型与 Protein A 配基的亲合效率(附表),如抗体所属亚型与 Protein A 的亲合度较低,可以通过增加抗体与磁珠的孵育时间(30~120 min)、提高结合缓冲液的 pH 值(8~9)及降低离子强度(25~100 mM NaCl)等方法提高亲合效率,或选择与目标抗体具有更高亲合度的配基(如 Protein G 或 Protein A/G)。

Q2: 如何提高抗体洗脱效率?

A2: 抗体与 Protein A 配基亲合度太高导致抗体洗脱效率低,可以通过降低洗脱缓冲液的 pH 值(1.9~2.5)、增大洗脱缓冲液的离子强度(可选用 2~3 M MgCl<sub>2</sub>)或延长洗脱时间,提高抗体的洗脱效率。但应注意抗体在低 pH 条件下容易形成聚集物,抗体洗脱产物应马上用碱性缓冲剂(如 Tris、HEPES 等)调节 pH 至中性。

Q3: 如何避免磁珠在储存或使用过程中可能出现的聚集情况?

A3: 磁珠应保存在 2~8℃,使用时应避免由于污染而导致的不可逆聚集,或因干燥而导致的聚集。磁珠在低 pH 的洗脱缓冲液中发生聚集属于正常现象,不影响磁珠的正常使用。在 Binding/Washing buffer 和 Elution buffer 中添加终浓度为 0.1% (v/v) 的非离子型去垢剂(如 NP-40、Tween-20 或 Triton X-100)可有效防止磁珠聚集。经过低 pH 洗脱操作的磁珠可以用 Binding/Washing buffer 和 Elution buffer 洗涤至中性,并用超声波水浴处理 2 min,即可使磁珠恢复均匀状态,以上处理均不影响磁珠的抗体结合效率。

Q4: 如何解决磁珠易粘附管壁的现象?

A4: 建议使用低吸附率的耗材进行磁珠操作。另外,在缓冲液中添加 0.01%~0.1% (v/v) 的非离子型去垢剂如 NP-40、Tween-20 或 Triton X-100)可以有效降低磁珠对耗材的粘附。

Q5: 磁珠在使用过程中出现结块现象?

A5: 磁珠在使用时如果出现结块现象一般较难振荡打散,容易导致分布不均,出现该问题的原因是磁珠在磁场中放置太久而使磁珠牢固的结合在一起。用超声波水浴处理 2 min 即可打散磁珠使其重新分散,但应注意超声处理也会使磁珠在样品溶液中捕获的抗体脱落,所以磁珠在加样后洗脱前不宜使用该方法。

**附表 1: 免疫磁珠 Protein A 和 Protein A/G 与不同来源及类型的抗体亲和性比较**

Pecies	Antibody Classes	Protein A/G	Protein A
Human	Total IgG	+++++	+++++
	IgG1, IgG2	+++++	+++++
	IgG3	+++++	+
	IgG4	+++++	+++++
	IgM	-	-
	IgD	-	-
	IgA	+	+
	IgA1, IgA2	+	+
	IgE	+++	+++
	Fab	-	-
	ScFv	-	-
	Mouse	Total IgG	+++++
IgM		-	-
IgG1		+++	+
IgG2a		+++	+++
IgG2b		+++	+
IgG3		+++	+++++
Rat	Total IgG	+++	+
	IgG1	+++	+
	IgG2a	+++++	-
	IgG2b	+	-
	IgG2c	+++++	+++
Cow	Total IgG	+++++	+
	IgG1	+++++	+
	IgG2	+++++	+++++
Goat	Total IgG	+++++	+
	IgG1	+++++	+
	IgG2	+++++	+++++
Sheep	Total IgG	+++++	+
	IgG1	+++++	+
	IgG2	+++++	+++++
Horse	Total IgG	+++++	+
	IgG(ab), IgG(c)	+	+
	IgG(T)	+++++	-

Rabbit	Total IgG	+++++	+++++
Guinea Pig	Total IgG	+++++	+++++
Hamster	Total IgG	+++	+++
Pig	Total IgG	+++++	+++++
Donkey	Total IgG	+++++	+++
Cat	Total IgG	+++++	+++++
Dog	Total IgG	+++++	+++++
Monkey	Total IgG	+++++	+++++
Chicken	Total IgY	-	-

