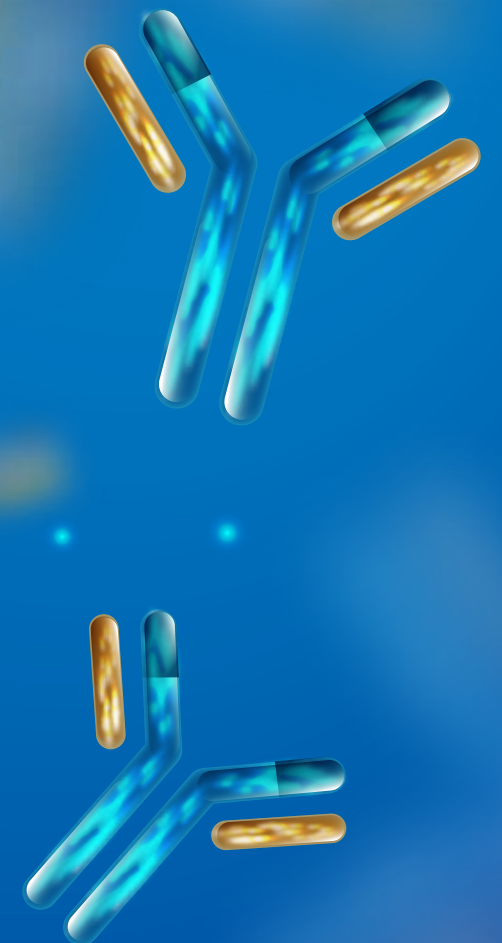
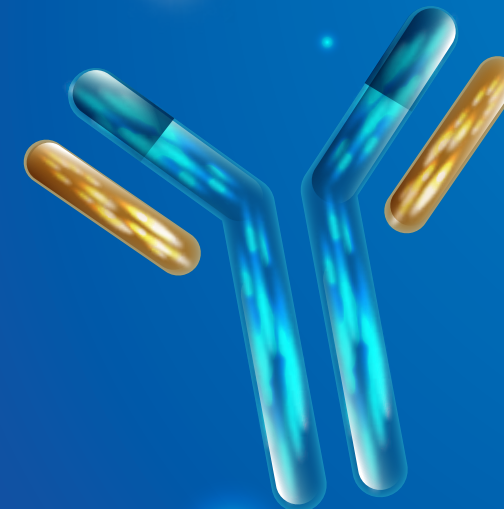
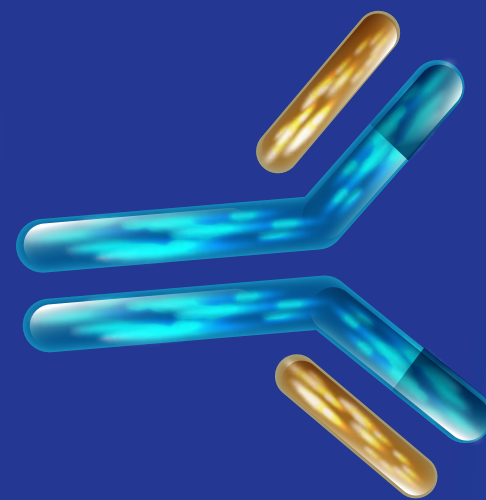





Nanjing Jinsirui Science & Technology Biology Corporation.
28 YongXi Road, JiangNing District NanJing, China

 www.genscript.com.cn

 86-025-58897288 ext 5810

 product@genscript.com.cn

抗体筛选平台技术手册



目 录

contents

AmMag™ 磁珠纯化平台简介

1

蛋白纯化磁珠产品

5

AmMag™ Protein A Magnetic Beads (Cat. NO. L00695) 6

Ni-charged MagBeads (Cat No. L00295) 14

AmMag™ Ni Magnetic beads (Cat. NO. L00776) 20

Protein G Magbeads MX 磁珠(Cat. NO. L00673) 26

AmMag™ 磁珠纯化设备

28

AmMag™ SA Plus半自动化磁珠纯化仪 29

产品目录

39



AmMag™ 磁珠纯化平台简介

抗体是一类能与抗原特异性结合的免疫球蛋白（Ig），由四条多肽链通过链间和链内二硫键连接组成，两条相同的相对分子质量较大的肽链称为重链（Heavy chain，H链），而两条相同的相对分子质量较小的肽链称为轻链（Light chain，L链）（图1）。

抗体重链类型直接决定了抗体的类型，哺乳动物抗体重链可分为五类，分别以希腊字母γ、α、μ、δ 和ε表示，据此将抗体相应地分为IgG, IgA, IgM, IgG 和IgE（图2）。哺乳动物抗体轻链共有两种类型：kappa（κ）与lambda（λ），同一个天然Ig分子上轻链类型总是相同。但在同一个体内可存在分别带有κ或λ链的抗体分子。

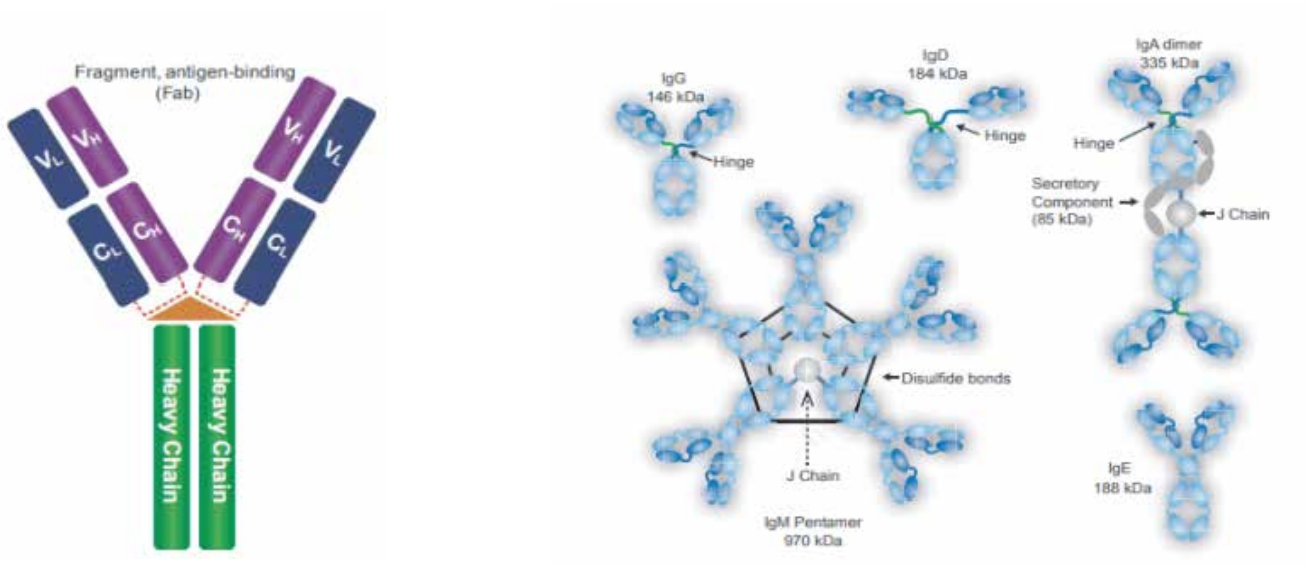


图 1. 抗体结构示意图

图 2. 人体中不同类型免疫球蛋白的结构

IgG是血清中一种主要的Ig，含量占总Ig的65-75%左右。广泛分布于组织液中，血管内，外间隙中分布量大体相当。是机体抗感染的一种重要物质。IgM是成熟胎儿合成的第一类Ig，也是在感染或免疫后最早产生的Ig，5类Ig中IgM最强，故其细胞毒活性和细胞溶解活性也最强。天然的血型抗体是IgM，有些自身抗体如抗磷脂抗体，RF等也属于IgM。IgA在血清和组织液中的含量相对较少，血清型IgA含量占总Ig的15-25%，但在外分泌液如初乳，唾液，眼泪，肠道分泌液和支气管分泌液中含量较高。IgE为单体结构，是正常人血清中含量最少的Ig。IgE在血清和组织液中含量机微，其主要生物学功能是与组织肥大细胞，嗜碱粒细胞表面的特异受体结合。IgD在正常人血清中浓度很低，几乎检测不到。IgD主要存在于人B淋巴细胞表面作为抗原的细胞受体，在血清中IgD含量极微且与膜结合的IgD有不同结构。在抗体的纯化过程中，Protein A, G, L磁珠对于不同物种的不同抗体类型亲和力也有所不同。

在实验中，可以参考下面的图表选择合适的纯化磁珠。金斯瑞提供的半自动磁珠纯化平台以及与其搭配的多种抗体蛋白纯化磁珠可以帮您简化繁琐的实验流程。

物种	抗体类型	Protein A	Protein G	Protein L
Human	Total IgG	+++	+++	+++
	IgG1	+++	+++	+++
	IgG2	+++	+++	+++
	IgG3	+	+++	+++
	IgG4	+++	+++	+++
	IgM	+	-	+++
	IgD	-	-	+++
	IgA	+	-	+++
	Fab	+	+	+++
	ScFv	+	-	+++
Mouse	Total IgG	+++	+++	+++
	IgM	-	-	+++
	IgG1	+	++	+++
	IgG2a	+++	+++	+++
	IgG2b	+++	+++	+++
	IgG3	+++	+++	+++
Rat	Total IgG	+	++	+++
	IgG1	+	++	+++
	IgG2a	-	+++	+++
	IgG2b	-	+	+++
	IgG2c	+++	+++	+++

抗体纯化工艺的突破

抗体技术的一次重大突破是单克隆抗体技术的诞生。为了便于区别，此前以抗原免疫动物获得抗血清途径制备的抗体称之为多克隆抗体。1975年英国科学家Milstein和法国科学家Kohler将产生抗体的B淋巴细胞同肿瘤细胞融合形成杂交瘤细胞。杂交瘤细胞具备亲本细胞的特性，既可以产生抗体，又具有肿瘤细胞无限增殖的特性，从而持续分泌单克隆抗体。自1986年第一个治疗性抗体进入临床以来，治疗性抗体得到了迅速的发展，到目前位置，FDA共批准了近百个治疗性抗体药物。治疗性抗体药物根据结构可以分为单克隆抗体（鼠源单抗，嵌合单抗，人源化单抗和全人源化单抗），小分子抗体(Fab, ScFv,VHHs)，抗体偶联物，抗体融合蛋白以及双特异性抗体等。人源化，小型化，功能化，特色化是抗体药物发展的新方向。

随着抗体药物市场的快速发展，如何在抗药早期高效筛选出靶向候选药物并改善和提升抗体生产纯化工艺过程成为主要的竞争点。目前抗体的纯化工艺主要是基于层析原理的传统树脂纯化方法，简化和提高抗体药物开发前期高通量纯化筛选工艺和效率的需求日渐凸显，而基于传统树脂的纯化方法逐渐显现出其固有的弊端，如下：

- （1）样品需要离心过滤预处理，耗时且损失样品。
- （2）单人同时操作样品量有限，不能满足高通量的需求。
- （3）对多个不同样品要进行分步过柱洗脱，耗时费力。

基于手工或者AKTA的填料纯化，每天最多能够实现约10个样品的纯化。如何在短时间内高效省力地完成多个样品的纯化流程，进而提高筛选的通量和效率成为当前抗药研发客户日益增长的主要需求点。

为了解决客户的这些痛点，有些生物公司推出了适配于客户高通量筛选的多通道纯化仪，由于全自动化的处理方式，在一定程度上解放了人力，但由于其仍是基于树脂的纯化方式，仍无法避免树脂固有的弊端，每一轮最多实现8个样品的纯化，一天8个小时最多完成16个样品的纯化，仍不能满足客户对时间和通量的需求。

为了解决传统纯化中的瓶颈，金斯瑞推出了全新的基于磁珠纯化的高通量自动化平台，可以实现抗体蛋白的快速筛选，简化您的实验流程，助力蛋白抗体的高通量纯化。



蛋白纯化
磁珠产品

AmMag™ Protein A Magnetic Beads

Cat. NO. L00695

金斯瑞提供的蛋白 A 磁珠是将重组 Protein A 蛋白共价偶联在磁珠颗粒上。产品多使用的磁珠是直径 30-100 μm 的超顺磁性磁珠。在磁场中能够迅速聚集，离开磁场后，又能均匀分散。Protein A 是一种细胞壁蛋白。具有不在抗原结合点而与免疫球蛋白结合的性质。主要是与 FC 片段结合。天然蛋白 A 有五个免疫球蛋白结合位点和很多未知的结合域。金斯瑞 AmMag™ Protein A 磁珠 (Cat. No. L00695) 所使用的蛋白 A 是经过改造的重组蛋白，有效降低非特异性吸附，同时可耐受 0.1-0.5 M NaOH。

PROTOCOL

1 | 试剂准备

试剂	推荐配方
Exchange Buffer	1xPBST, 0.1% Tween 20, 50 ml
Washing Buffer	1× PBS, pH 7.2, 2 L
Elution Buffer	0.1 M NaAc-HAc, pH 3.0, 2 L
Cleaning Buffer	0.05 M HCl, pH 1.5, 2 L
NaOH	0.1 M NaOH, 2 L
Neutralization Buffer	1 M Tris, pH 9.0, 50 ml

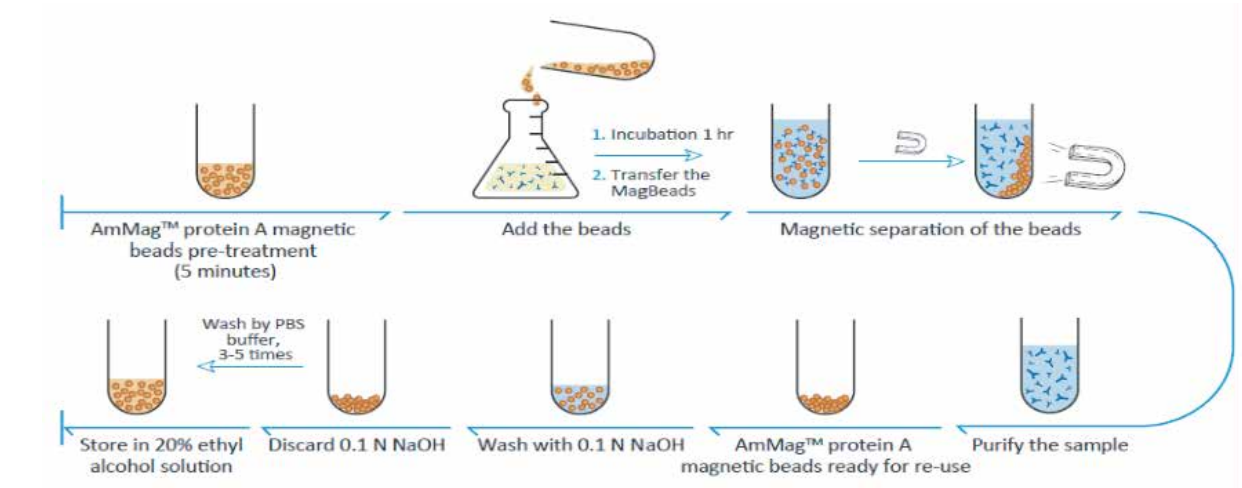
注：0.1 M NaAc-Hac, pH 3.0溶液的配置方法，量筒称取6m醋酸，加950 ml水，用1.3 ml，5 M NaOH 调节PH至3.0，再定容到1 L，如果洗脱液离子浓度低于0.1 M，会导致洗脱液缓冲能力降低从而降低洗脱效率。

2 | 纯化设备

磁力架采用强磁磁铁，可快速吸附磁珠。可拆卸离心管托板，操作更方便。配备无磁底座，方便孵育操作，更贴心。磁力棒用于纯化大于100 ml的样品。

货号	产品名	纯化体积	简图	详情
L00762	96孔深孔板配套磁力架	1-5 ml		配套thermo96孔深孔板 货号95040462 配套thermo24孔深孔板 货号95040470
L00723	AmMag™MR	5-50 ml		1、无磁底座*1 2、磁力底座*1 3、15ml托板*1 4、50ml托板*1
L00778	Magetic rod-L 12 mm*400 mm	50-2000 ml		
L00779	Magetic shel-L 16 mm*300 mm	50-2000 ml		

3 | 操作步骤



4 | 磁力架纯化

(1) 磁珠准备

- ① 通过摇晃或涡旋，重悬磁珠；
 - ② 取适量的磁珠放入15 ml或50 ml离心管中，放置在磁力架磁力底座上或用磁铁吸附，弃上清；
 - ③ 按1:10 加入Exchange buffer 充分混匀，放置在磁力架磁力底座上或用磁铁吸附，弃上清；
 - ④ 重复洗涤1次；
 - ⑤ 按1:1 加入Exchange buffer 重悬磁珠待用。
- 注：磁珠再生后，短时间内可用Exchange buffer 按1:1 重悬后，存储在2-8 ℃。下次实验，混匀后可直接使用。

(2) 样品孵育

- ① 取适量磁珠添加到样品中，盖紧瓶盖，用封口膜封口；
- ② 将样品置于旋转混合仪上，室温孵育，使样品与磁珠充分接触，样品体积大于 50 ml 的，需要在摇床孵育，转速需要保证能够使磁珠悬浮起来（注意：转速太快会产生泡沫）；
- ③ 磁珠用量及孵育时间参考

Working capacity				
Sample concentration(hlgG)	RT / 2 H	37°C / Overnight	4°C / 2 H	4°C / Overnight
0.01 mg/ml	2.5 mg/ml	5 mg/ml	2 mg/ml	2.5 mg/ml
0.1 mg/ml	20 mg/ml	30 mg/ml	15 mg/ml	20 mg/ml
0.5 mg/ml	35 mg/ml	60 mg/ml	30 mg/ml	50 mg/ml
1 mg/ml	45 mg/ml	70 mg/ml	40 mg/ml	60 mg/ml
3 mg/ml	70 mg/ml	100 mg/ml	60 mg/ml	85 mg/ml

注：表达量低于50 mg/L时，需要加长孵育时间到4 h。

(3) 洗涤

- ① 磁珠与上清分离：
方法一，用磁铁吸附磁珠，将上清转入干净的烧杯中待用或丢弃；
方法二，配合磁力架使用。取50 ml离心管置于磁力底座上，将磁珠样品混合液倒入离心管中，每次50 ml。磁力底座吸附磁珠，弃上清或转入干净的烧杯中。重复操作数次，至吸附全部磁珠；
- ② 加10-20 MV洗涤缓冲液，充分洗涤磁珠；（注：MV指添加纯磁珠的体积）
- ③ 将离心管置于磁力底座上吸附磁珠，弃上清；
- ④ 重复洗涤2次；
- ⑤ 加5 MV ddH₂O 充分洗涤磁珠，根据以上步骤，弃上清。

(4) 洗脱

- ① 用移液枪吸去残留在管底的洗涤液。加入适量洗脱缓冲液(推荐 5-10 MV), 充分混匀后置于无磁底座或试管架上静止孵育 5 min,孵育期间重悬磁珠 2-3 次；
- ② 将离心管置于磁力架上吸附磁珠，用移液枪将上清转入干净的EP管或离心管中；
- ③ 重复洗脱1-2次；
- ④ 加入适量中和液，混匀中和，进行下一步实验（如：电泳检测，浓度检测）。

(5) 磁珠回收

- ① 用10倍磁珠体积的平衡Buffer洗涤磁珠2-3次；
- ② 加入10倍柱体积 0.1 M NaOH重悬磁珠，浸泡30 min；
- ③ 重复上一步骤；
- ④ 用平衡Buffer 洗涤磁珠2-3次；
- ⑤ 用20% 乙醇重悬磁珠，置于4 ℃保存。

5 | 常见问题及解决

问题描述	原因分析	原因分析
磁珠在乙醇中团聚问题	磁珠未浸没在buffer 中干掉引起的变形	在收到磁珠及使用后，要保证所有磁珠均浸没在20%乙醇中。
磁珠存在贴壁现象	在疏水性弱的缓冲液中，磁珠少量吸附在管壁上正常现象，不会影响使用。	1.在平衡液中添加0.05%–0.1%吐温20/80 2.使用不沾壁配套的Corning离心管完成孵育后换管进行洗杂洗脱。
磁珠残留	操作不规范或操作太快，磁珠未完全吸附	1. 搭配磁力架使用； 2. 对样品进行过滤。
抗体得率低	洗脱液不合适或加量少	降低洗脱液PH；5CV多次洗脱； 降低洗杂用PBS的PH。
	孵育时长短	一般推荐2 h。 表达量低于50 mg/L时建议延长孵育时间。
磁珠在孵育状态聚集	由于抗体产生聚集而导致磁珠聚集	在孵育过程中加入少量tween 20/80。
样品浓度低	磁珠加量多，或洗脱体积过大	按推荐投量添加磁珠，减小洗脱体积。



应用案例一：AmMag™ protein A 磁珠耐碱测试

用常规再生流程对AmMag™ protein A 磁珠进行再生，并测试其载量
实验流程：

- 1.加入5 MV PBS 洗涤磁珠3次
- 2.加入20 MV 0.1 M NaOH 浸泡磁珠15分钟，重复两次共30分钟
- 3.加入5 MV PBS 洗涤三次

结论 AmMag™ Protein A 磁珠重复利用40次工作载量的损失小于20%。

saturated capacity after alkaline-treatment cycles					
sample	hIgG: 5 mg/ml, 5 ml	hIgG: 5 mg/ml, 5 ml	hIgG: 5 mg/ml, 5 ml	hIgG: 5 mg/ml, 5 ml	hIgG: 5 mg/ml, 5 ml
AmMag™ Protein A Magnetic Beads volume (lot. LFD1129-1 Protein A)	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
Incubation time	1 h	1 h	1 h	1 h	1 h
cycle of NaOH treatment	0	10	20	30	40
Binding capacity (mg/ml)	91.71	76.57	74.82	73.17	73.48
Percentage drop in load		15.14%	18.42%	20.34%	19.88%

vs 对比不同厂家Protein A 磁珠耐碱性测试

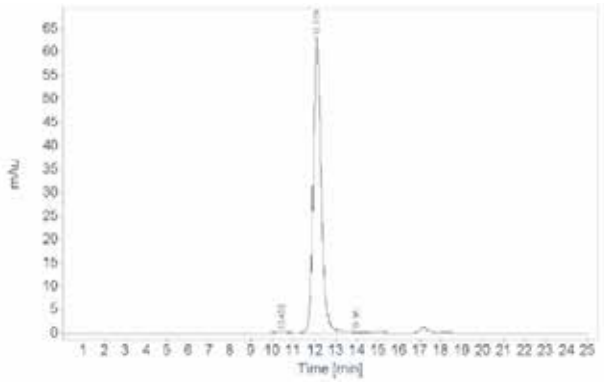
实验条件：
样品浓度5 mg/ml, 磁珠体积0.1 ml，室温孵育1小时

- 结论**
- (1) 竞品公司Y耐碱Protein A 磁珠载量最低。
 - (2) 0.1 M NaOH 再生处理24h，竞品公司T载量下降17.26%，金斯瑞载量下降2.21%。
 - (3) 从耐碱24 h处理结果可推算出，金斯瑞AmMag™ Protein A 磁珠循环使用次数显著多于竞品公司T Protein A 磁珠。

磁珠类型	洗脱液	洗脱1 体积 (ml)	洗脱1 浓度 (mg/ml)	洗脱2 体积 (ml)	洗脱1 浓度 (mg/ml)	洗脱3 体积 (ml)	洗脱3 浓度 (mg/ml)	总量 (mg)	载量 (mg/ml)	载量 下降 (%)
公司Y	0.1 M 甘氨酸 (PH3.0)	0.5	2.045	0.5	0.408	0.5	0.205	1.329	13.29	\
公司Y-0.1 M NaOH		0.5	1.559	0.5	0.906	0.5	0.189	1.327	13.27	0.15048909
公司T		0.5	12.751	0.5	1.555	0.5	0.19	7.248	72.48	\
公司T-0.1 M NaOH		0.5	10.388	0.5	1.448	0.5	0.158	5.997	59.97	17.2599338
金斯瑞		0.5	15.693	0.5	1.653	0.5	0.199	8.7725	87.725	\
金斯瑞-0.1 M NaOH		0.5	15.281	0.5	1.693	0.5	0.2	8.587	85.87	2.12014134

应用案例二：hIgG1λ 纯化结果对比案例

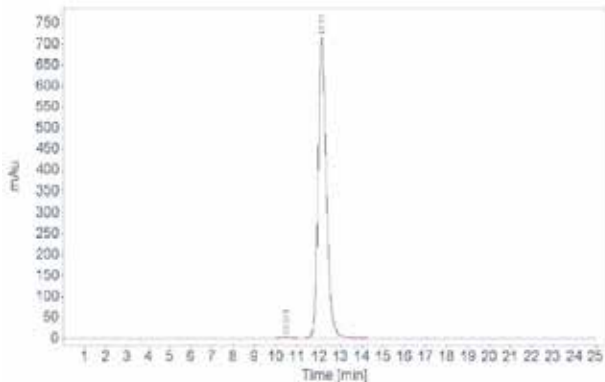
Purification method	Beads Volume	Protein Name	Host cell line	concentra- tion of the samples	Samples volume	Elution volume	Elution cycle	Recovery	Purity (SEC -HPLC)
AmMag™ Protein Amagnetic beads (R30011702) —by manual	0.5 ml	IgG1λ	293-6E	153.83 mg/L (Test by Elisa)	50 mL	1.1 ml	2	7.729 mg	99.36%
Resin—by Tecan	0.6 ml	IgG1λ	293-6E	153.83 mg/L (Test by Elisa)	50 mL	0.7 ml	5	7.818 mg	99.09%



Signal VWD1 A, Wavelength=280 nm

RT (min)	Height (min)	Width (min)	Area	Area%
10.459	0.2684	0.7797	12.5559	0.7441
12.079	63.0205	0.4422	1672.1206	99.0971
13.950	0.0904	0.4939	2.6790	0.1588
		Sum	1687.3555	

AmMag™ Protein A Magnetic Beads



Signal VWD1 A, Wavelength=280 nm

RT (min)	Height (min)	Width (min)	Area	Area%
10.501	2.7711	0.7453	123.9112	0.6368
12.110	715.6257	0.4503	19333.3516	99.3632
		Sum	19457.2628	

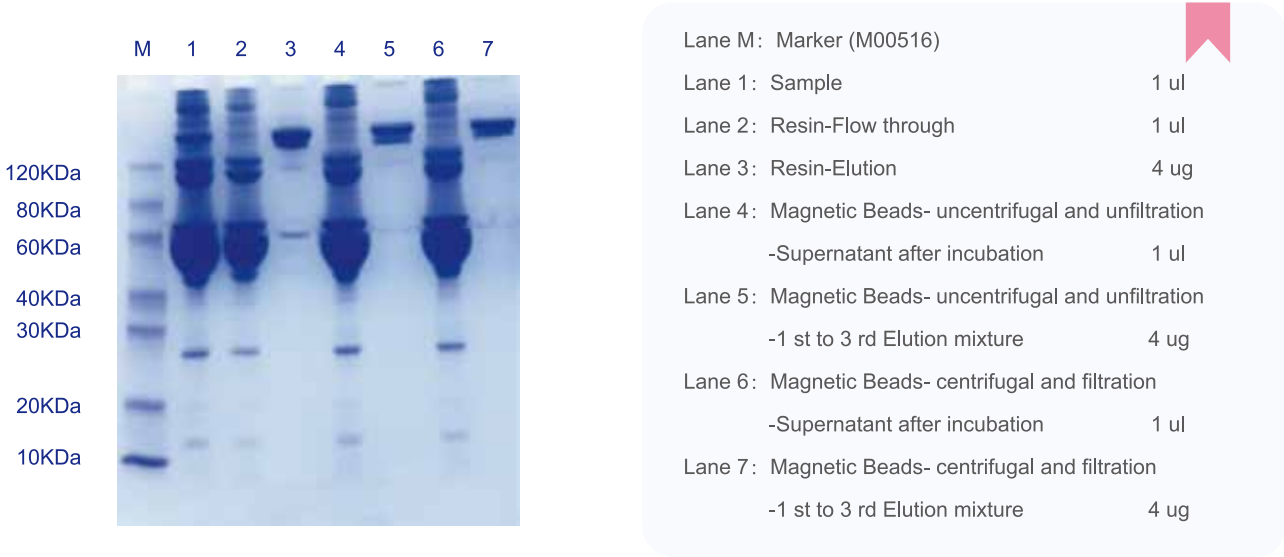
Tecan

- 结论** AmMag™ Protein A 磁珠在纯化hIgG1λ 样品上可以得到和填料相当的纯度和回收率。

应用案例三：从小鼠腹水中纯化抗体

Sample(M063-1, Mouse IgG1, k)	Dilute 10 ml Mouse ascites with 10ml PBS	Sample(M063-1, Mouse IgG1, k)	Dilute 10 ml Mouse ascites with 10 ml PBS
MagBeads	AmMag™ Protein A Magnetic Beads	Resin	1 ml Monofinity A Resin Prepacked column
MagBeads volume	1 mL	Wash Buffer	PBS
Wash Buffer	PBS	Elution Buffer	0.1 M Acetic Acid-Sodium Acetate,pH3.6
Elution Buffer	0.1 M Acetic Acid-Sodium Acetate,pH3.6	AKTA	Pure-25
AmMag™ SA	Cat No.L00768		

Instrument	Sample Processing Method	1 st Elution volume	1 st Elution concentration	2 nd Elution volume	2 nd Elution concentration	3 rd Elution volume	3 rd Elution concentration	Antibody recovery
AmMag™ SA	uncentrifugal and unfiltration	3.88 ml	2.178 mg/ml	3.76 ml	0.245 mg/ml	3.51 ml	0.006 mg/ml	9,393 mg
AmMag™ SA	centrifugal and filtration	3.74 ml	2.044 mg/ml	3.65 ml	0.261 mg/ml	3.44 ml	0.011 mg/ml	8,635 mg
AKTA	centrifugal and filtration	2.009 mg/mL(Con.)*4.4 mL(V)=8,840 mg						

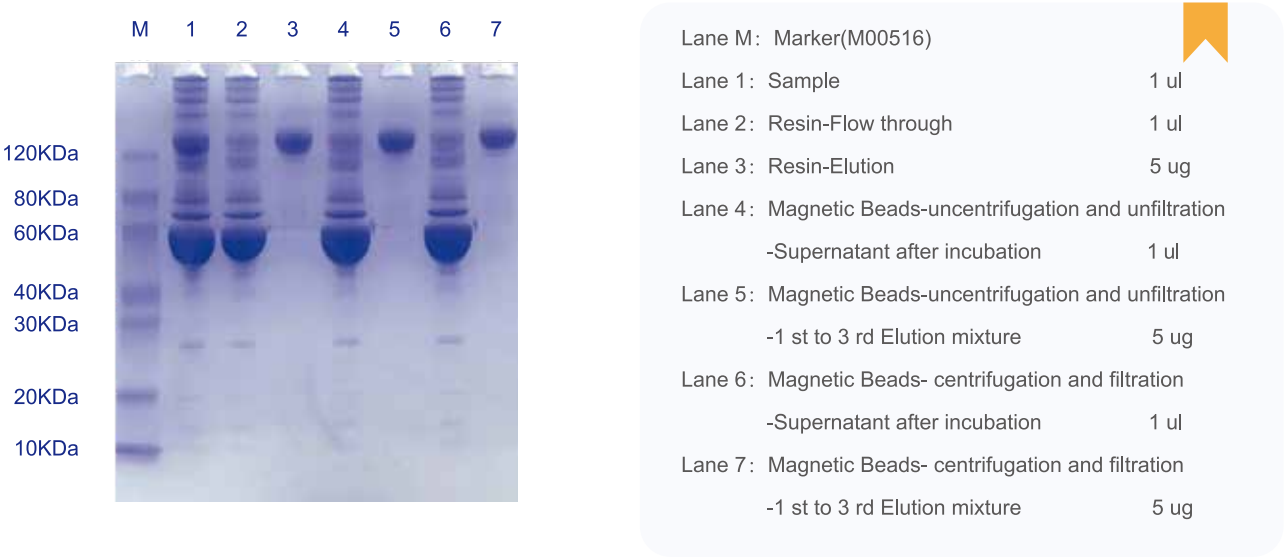


结论 AmMag™ Protein A 磁珠在纯化hIgG1λ 样品上可以得到和填料相当的纯度和回收率。

应用案例四：从兔血清中纯化抗体

Sample(A00199-2)	Dilute 10 ml Rabbit serum with 10 ml PBS	Sample(A00199-2)	Dilute 10 ml Rabbit serum with 10 ml PBS
MagBeads	AmMag™ Protein A Magnetic Beads	Resin	1 ml Monofinity A Resin Prepacked column
MagBeads volume	1 mL	Wash Buffer	PBS
Wash Buffer	PBS	Elution Buffer	0.1 M Acetic Acid-Sodium Acetate,pH3.6
Elution Buffer	0.1 M Acetic Acid-Sodium Acetate,pH3.6	AKTA	Pure-25
AmMag™ SA	Cat No.L00768		

Instrument	Sample Processing Method	1 st Elution volume	1 st Elution concentration	2 nd Elution volume	2 nd Elution concentration	3 rd Elution volume	3 rd Elution concentration	Antibody recovery
AmMag™ SA	uncentrifugal and unfiltration	3.11 ml	10.400 mg/ml	3.04 ml	3.916 mg/ml	3.09 ml	0.870 mg/ml	46,937 mg
AmMag™ SA	centrifugal and filtration	3.02 ml	10.201 mg/ml	3.18 ml	3.856 mg/ml	3.11 ml	0.936 mg/ml	45,980 mg
AKTA	centrifugal and filtration	6.365 mg/mL(Con.)*7 mL(V)=44,555 mg						



结论 使用AmMag™ Protein A 磁珠纯化的回收率与传统填料的回收率相当。使用两种方法得到的纯度均非常高。

Ni-charged MagBeads

Cat. NO. L00295

金斯瑞 Ni-charged Magbeads 主要用于纯化和筛选带有组氨酸标签的蛋白质，通过磁力分离可以简化纯化过程中对多个试管的需求，减少样品的损失，并去除了纯化过程中的几个离心步骤。金斯瑞 Ni-charged Magbeads 将镍共价偶联到平均直径为 40 um 的超顺磁磁珠颗粒上。提供的磁珠在 20% 的乙醇中以 25% 的悬浊液形式存在。每毫升 Ni-Charged 纯磁珠（4 ml 25% 悬浊液）可结合 40 mg 6xHis-tagged 蛋白。

PROTOCOL

在非变性条件下进行组氨酸标签蛋白纯化

1 | 试剂准备

Lysis Equilibration Buffer (LE buffer)	50 mM NaH ₂ PO ₄ , 300 mM NaCl, pH 8.0
Binding/Washing Buffer	50 mM NaH ₂ PO ₄ , 300 mM NaCl, 10 Mm咪唑, pH 8.0
Elution Buffer	50 mM NaH ₂ PO ₄ , 300 mM NaCl, 250 Mm咪唑, pH 8.0

注：纯化包涵体时，将8 M尿素或6 M Gu•HCl 加入到Binding / Wash 和Elution 缓冲液中以提高蛋白质的溶解度。

2 | 磁力架纯化

（1）细胞裂解

- ① 将细胞沉淀完全重悬在冰冷的LE Buffer 中。注意：可以在LE Buffer 中加入适量的PMSF 或其他蛋白酶抑制剂，以防止蛋白质降解。
- ② 180 × 1秒钟的脉冲冰上超声处理溶液，冷却时间为3秒钟。
注意：如果裂解液太粘，则添加RNase A（10 μg/ ml）和DNase I（5 μg/ ml），并在冰上孵育10–15分钟。
- ③ 在 4 °C 下以 12000 × rpm 离心裂解液 15 分钟以沉淀细胞碎片，收集上清液。保存 10–20 μl 上清液用于 SDS–PAGE 分析。

（2）磁珠制备

- ① 通过摇动或涡旋小瓶将磁珠完全重悬。
- ② 将100 μl的珠子转移到干净的试管中。
- ③ 将试管放在AmMag™ MR 磁选架（L00723）上以收集磁珠。除去并丢弃上清。
- ④ 向试管中加入1 mL LE Buffer，并将试管倒置几次以进行混合。使用磁力分离架收集珠子并丢弃上清液。重复此步骤两次。

（3）样品孵育

- ① 取适量磁珠添加到样品中，盖紧瓶盖，用封口膜封口。
- ② 将样品置于旋转混合仪上，室温孵育2 h（表达量低于0.5 mg/mL时，孵育4个小时），使样品与磁珠充分接触，样品体积大于50 ml的，需要在摇床孵育，转速需要保证能够使磁珠悬浮起来（注意：转速太快会产生泡沫）。
- ③ 磁珠用量及孵育时间参考。

Ni-NTA 动态载量 (L00295)				
Sample concentration(MBP)	RT / 2 H	37 °C / Overnight	4 °C / 2 H	4 °C / Overnight
0.01 mg/ml	2.5 mg/ml			2.5 mg/ml
0.1 mg/ml	30 mg/ml	20 mg/ml	20 mg/ml	20 mg/ml
0.5 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	40 mg/ml
2 mg/ml	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	50 mg/ml

（4）样品洗涤

- ① 磁珠与上清分离：
方法一，用磁铁吸附磁珠，将上清转入干净的烧杯中待用或丢弃；
方法二，配合磁力架使用。取50 ml 离心管置于磁力底座上，将磁珠样品混合液倒入离心管中，每次50 ml。磁力底座吸附磁珠，弃上清或转入干净的烧杯中。重复操作数次，至吸附全部磁珠；
- ② 加10 MV Washing Buffer，充分洗涤磁珠；（注：MV指添加纯磁珠的体积）
- ③ 将离心管置于磁力底座上吸附磁珠，弃上清；
- ④ 重复洗涤2次。

（5）洗脱

- ① 用移液枪吸去残留在管底的洗涤液。加入适量Elution Buffer（推荐5-10 MV），充分混匀后置于无磁底座或试管架上静止孵育5 min，孵育期间重悬磁珠2-3次；
- ② 将离心管置于磁力架上吸附磁珠，用移液枪将上清转入干净的EP管或离心管中；
- ③ 重复洗脱1-2次；

（6）磁珠回收

- 要清洁并重复使用Ni磁珠纯化相同的蛋白质，请使用以下方法。
备注：此方法只可用于回收准备磁珠，最多可重复使用5次。
- ① 用洗脱液(500 mM 咪唑，300 mM NaCl，pH8.5)清洗3次。
- ② 用4x体积dI（去离子）水涡旋磁珠。涡旋10秒钟，然后丢弃水。重复此步骤三遍。
- ③ 用4x体积的20%乙醇涡旋磁珠。涡旋10秒钟，并丢弃20%的乙醇。重复此步骤三遍。
- ④ 将磁珠存放在20%的乙醇中，直至进一步使用。

（7）磁珠再生

- 建议再生缓冲液及过程如下：
再生缓冲液：20 mM Tris-HCl，300 mM NaCl，100 mM EDTA，pH7.4
补给缓冲液：100 mM NiSO4
磁珠再生步骤：
① 将待再生磁珠混悬后，磁铁吸附，去除上清液，保留磁珠。
② 加入10倍磁珠体积的再生缓冲液，涡旋振荡10分钟（孵育装置即可），磁铁吸附，去除上清液，重复此步骤一次。
③ 加入10倍磁珠体积去离子水，涡旋振荡10分钟，磁铁吸附，去除上清液，重复此步骤两次。

- ④ 加入5倍磁珠体积补给缓冲液，涡旋振荡30分钟混合，磁铁吸附，去除上清液。
- ⑤ 加入10倍磁珠体积去离子水，涡旋振荡10分钟，磁铁吸附，去除上清液，重复此步骤两次。
- ⑥ 再生后磁珠直接用于下一次蛋白纯化，或加20 %（v/v）乙醇溶液，2~8 °C短期保存备用。

在变性条件下进行组氨酸标签蛋白纯化

1 | 试剂准备

Lysis Equilibration Buffer (LE buffer)	100 mM NaH ₂ PO ₄ , 10 mM Tris • Cl, 8 M urea, pH 8.0
Binding/Washing Buffer	100 mM NaH ₂ PO ₄ , 10 mM Tris • Cl, 10 Mm咪唑, 8 M urea,pH 8.0
Elution Buffer	100 mM NaH ₂ PO ₄ , 10 mM Tris • Cl, , 250 Mm咪唑, 8 M urea,pH 8.0

建议使用该流程进行包涵体纯化，使用该流程纯化的蛋白有可能需要重新折叠从而恢复之前的蛋白活性

2 | 溶解包涵体

- ① 将细胞沉淀完全重悬在1×PBS, pH 8.0，通过超声波裂解细胞
- ② 以12000 rpm离心裂解液10分钟，收集包涵体
- ③ 用1× PBS, pH8.0洗涤包涵体3次
- ④ 将包涵体完全重悬在LE buffer中(每10 mg 包涵体加入0.5-1 ml LE buffer)
- ⑤ 将重悬液在室温下孵育30-60分钟，以12000 rpm离心30分钟去除不溶物。将上清转移到干净的试管中。

其余步骤可参考在非变性条件下进行组氨酸标签蛋白纯化。

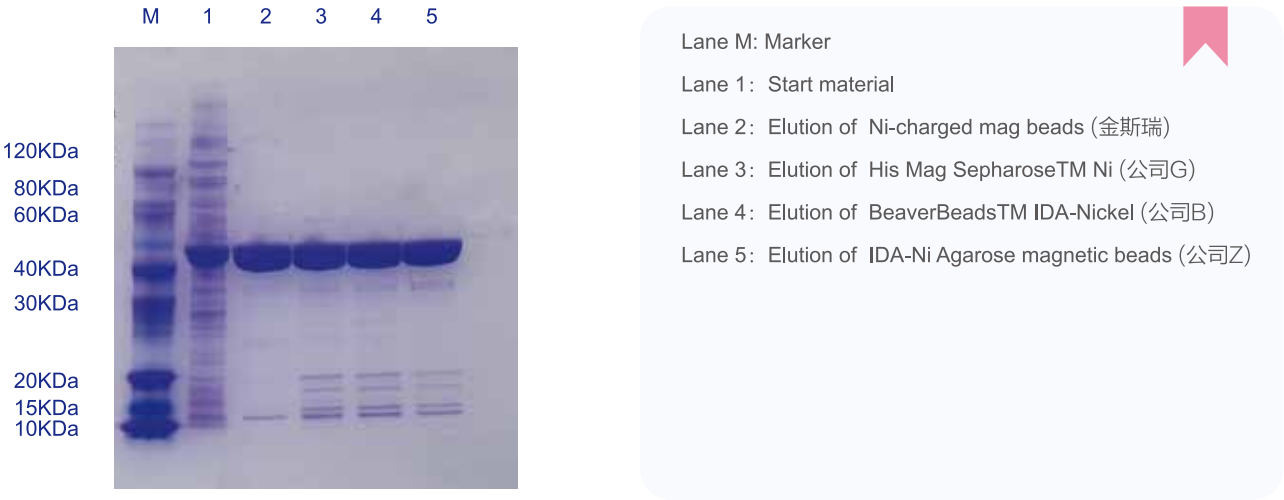
3 | 常见问题及解决

问题描述	原因分析	原因分析
样品黏度高	样品中含有高浓度的宿主核酸	继续超声处理直至粘度降低，和/或将DNaseI 添加至5 µg/ml，将Mg2+添加至1 mM，并在冰上孵育10-15分钟。
磁珠存在贴壁现象	在疏水性弱的缓冲液中，磁珠少量吸附在管壁上正常现象，不会影响使用。	使用低吸附性的离心管
磁珠残留	操作不规范或操作太快，磁珠未完全吸附	1.搭配磁力架使用 2.对样品进行过滤
纯化的目标蛋白的产量低或无法检测	1.由于蛋白质折叠，未暴露多组氨酸标签。 2.表达水平太低。 3.加载的样本不足。 4.洗杂液洗杂能力太强。 5.重组蛋白对MagBeads具有很高的亲和力。 6.该蛋白质已被降解。	1.尝试使条件变性。 2.优化表达条件。 3 纯化更多样品。 4.通过降低pH或增加咪唑浓度来提高洗脱的成功率。 5.使用EDTA 或EGTA (10-100 mM) 去除镍离子珠并洗脱蛋白质。 6.在4 °C下执行所有纯化步骤，并使用蛋白酶抑制剂。
洗脱样品中观察到多个非特异性条带	1. 磁珠清洗不彻底。 2. 样品中还有其他富含多组氨酸的蛋白质。	1.增加洗涤时间或洗涤缓冲液的体积。 2. 在洗脱步骤之前，请尝试使用较低 pH 值(介于 pH 4 和 pH 6 之间)的高严格性缓冲液再洗涤一次。 3.尝试pH梯度洗脱或咪唑梯度洗脱。 4.使用另一种磁珠或树脂进行第二次纯化。

应用案例一：Ni-NTA 磁珠纯度和工作载量对比案例

对比不同厂家Ni 磁珠纯化纯度

Experiment Condition				
Supplier	金斯瑞	公司G	公司B	公司Z
Medium	Ni-charged magnetic beads (Lot. C40021802)	His Mag Sepharose™ Ni	Company B IDA-Nickel	IDA-Ni Agarose magnetic beads
Medium Volume	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
Sample	MBP E. coli broken liquid	MBP E. coli broken liquid	MBP E. coli broken liquid	MBP E. coli broken liquid
Sample Volume	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml
Incubation Time	RT,2 h	RT,2 h	RT,2 h	RT,2 h
Binding buffer	60 mM sodium phosphate 300 mM NaCl 10 mM imidazole pH 8.0			
Wash buffer	60 mM sodium phosphate 300 mM NaCl 10 mM imidazole pH 8.0			
Elution buffer	60 mM sodium phosphate 300 mM NaCl 500 mM imidazole pH 8.0			



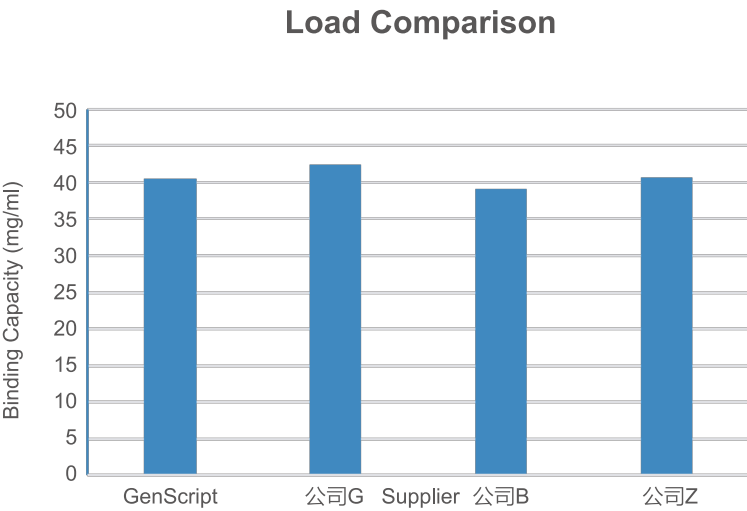
结论 使用金斯瑞Ni-NTA 磁珠纯化得到的纯度优于竞品Ni 磁珠。

应用案例一：Ni-NTA 磁珠纯度和工作载量对比案例

continue

对比不同公司Ni 磁珠工作载量

Working Binding Capacity				
Supplier	金斯瑞	公司G	公司B	公司Z
MagBeads	Ni-charged magnetic beads (Lot. C40021802)	His Mag Sepharose™ Ni	Company B IDA-Nickel	IDA-Ni 琼脂糖磁珠
MagBeads Volume	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
Sample	MBP: 0.5 mg/ml 10 ml	MBP: 0.5 mg/ml 10 ml	MBP: 0.5mg/ml 10ml	MBP: 0.5 mg/ml 10 ml
Incubation Time	RT,2h	RT,2 h	RT,2 h	RT,2 h
Binding buffer	20 mM PBS+0.1% tween80			
Wash buffer	20 mM PBS			
Elution buffer	60 mM sodium phosphate 300 mM NaCl 500 mM imidazole pH 8.0			
Binding Capacity	40.46 mg/ml	42.42 mg/ml	39.12 mg/ml	40.62 mg/ml

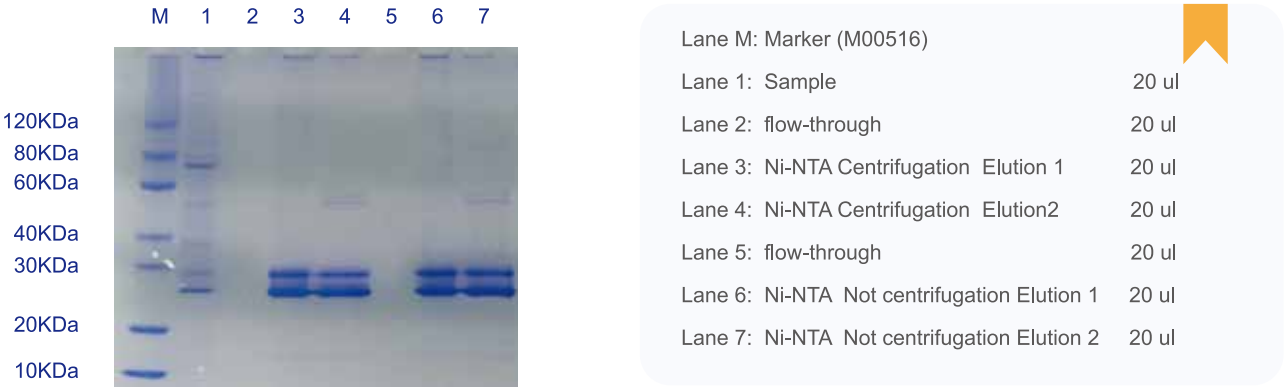


结论 金斯瑞Ni-NTA 磁珠的工作载量与竞品相当。

应用案例二：使用Ni-NTA 磁珠纯化哺乳动物细胞中表达的His-tagged 蛋白

MagBeads	NI-NTA MagBeads (GenScript C42951903)
Resin	1ml Ni-Excel Resin Prepacked column
Sample	IGF-BP-4(His Tag Protein expression by 293)
Equilibration buffer	PBS
Elution 1 buffer	25 mM Tris 300 mM NaCl,50mM Imidazole (pH8.0)
Elution 2 buffer	25 mM Tris 300 mM NaCl,500mM Imidazole (pH8.0)
Volume per sample	50 ml

Incubation temperature	Incubation time	Centrifugation	Volume of magbeads	Theoretical workload	Elution volume	Elution 1 (A280)	Elution 2 (A280)	Recovered protein (mg)	Recovery	A260/A280
RT	2 h	Yes	300 ul	2.5 mg/ml	2 ml	0.12	0.087	0.414	56.56%	0.96
		No	300 ul		2 ml	0.186	0.139	0.65	88.80%	1.15
4 ℃	overnight	Yes	300 ul		2 ml	0.151	0.04	0.382	52.19%	0.91
		No	300 ul		2 ml	0.185	0.044	0.458	62.57%	0.93
Ni-Excel Resin: Elution Volume:3 ml Elution Protein Concentration:0.244 mg/ml Eexpression:14.6 mg/L										



结论 金斯瑞Ni-NTA 磁珠可用于纯化哺乳动物细胞中表达的his-tagged 蛋白, 纯度较高。

AmMag™ Ni Magnetic beads

Cat. NO. L00776

金斯瑞AmMag™ Ni 磁珠(L00776)将镍共价偶联到平均直径为70 um的超顺磁磁珠颗粒上。提供的磁珠在20%的乙醇中以25%的悬浊液形式存在。每毫升AmMag™ Ni Magbeads 纯磁珠(4 ml 25% 悬浊液)可结合10 mg His-tagged 蛋白，具有高度的EDTA和DTT抗性（20 mM EDTA, 10 mM DTT 可耐受24 h; 100 mM EDTA, 20 mM DTT 可耐受 1h），并能够在螯合剂存在下结合蛋白质。并且磁珠也经过优化，使清理和再生更加方便，可进行多个样品的重复使用。

PROTOCOL

1 | 试剂准备

Lysis Equilibration Buffer (LE buffer)	20 mM NaH ₂ PO ₄ , 10 mM NaCl, pH 7.0
Binding/Washing Buffer	20 mM NaH ₂ PO ₄ , 150 mM NaCl, pH 7.0
Elution Buffer	20 mM NaH ₂ PO ₄ , 150 mM NaCl, 500 mM咪唑, pH 7.0

注：纯化包涵体时，将8 M尿素或6 M Gu•HCl 加入到Binding / Wash 和Elution 缓冲液中以提高蛋白质的溶解度。

2 | 磁力架纯化

（1）细胞裂解 (参考Ni-NTA 磁珠PROTOCOL 步骤)

（2）磁珠制备 (参考Ni-NTA 磁珠PROTOCOL 步骤)

（3）样品孵育 (磁珠用量与孵育时间参考下表)

（4）样品洗涤 (参考 Ni-NTA 磁珠PROTOCOL 步骤)

（5）洗脱(参考 Ni-NTA 磁珠PROTOCOL 步骤)

AmMag Ni-Magnetic Beads动态载量 (L00776)	
Sample concentration(MBP)	RT / 1 H
0.01 mg/ml	1-2 mg/ml
0.1 mg/ml	8 mg/ml
0.5 mg/ml	9 mg/ml
1 mg/ml	9 mg/ml

（6）磁珠回收

要清洁并重复使用Ni磁珠纯化相同的蛋白质，请使用以下方法。（注意：要彻底清洁磁珠以纯化不同的蛋白，请遵循再生方法。此方法只可用于回收准备磁珠，最多可重复使用3次。

- ① 在洗脱步骤之后，用4x体积dl（去离子）水涡旋磁珠。涡旋10秒钟，然后丢弃水。重复此步骤三遍。
- ② 用4x体积的20%乙醇涡旋磁珠。涡旋10秒钟，并丢弃20%的乙醇。重复此步骤三遍。
- ③ 将磁珠存放在20%的乙醇中，直至进一步使用。

（7）磁珠再生

该再生方法可以彻底清理AmMag Ni 磁珠，从而可以重复使用磁珠。当缓冲中有螯合剂（<100 mM EDTA）时，AmMag Ni 磁珠最多可以重复使用3次。当缓冲中不存在螯合剂时，AmMag Ni 磁珠重复使用次数与样品的纯度和组成有关，最多可使用100个纯化循环。具体再生步骤如下：

- ① 要再生磁珠，请在洗脱步骤之后用4倍体积的dl水涡旋磁珠。涡旋10秒钟，然后丢弃水。重复此步骤两次。
- ② 加入4倍体积的清洁缓冲液（1 M NaOH和2 M NaCl），涡旋磁珠30分钟（孵育装置即可）。
- ③ 用4倍体积的去离子水清洗磁珠，直到水变成中性pH（约4-5倍）。
- ④ 将磁珠储存在4 °C的20%乙醇溶液中，直至进一步使用。

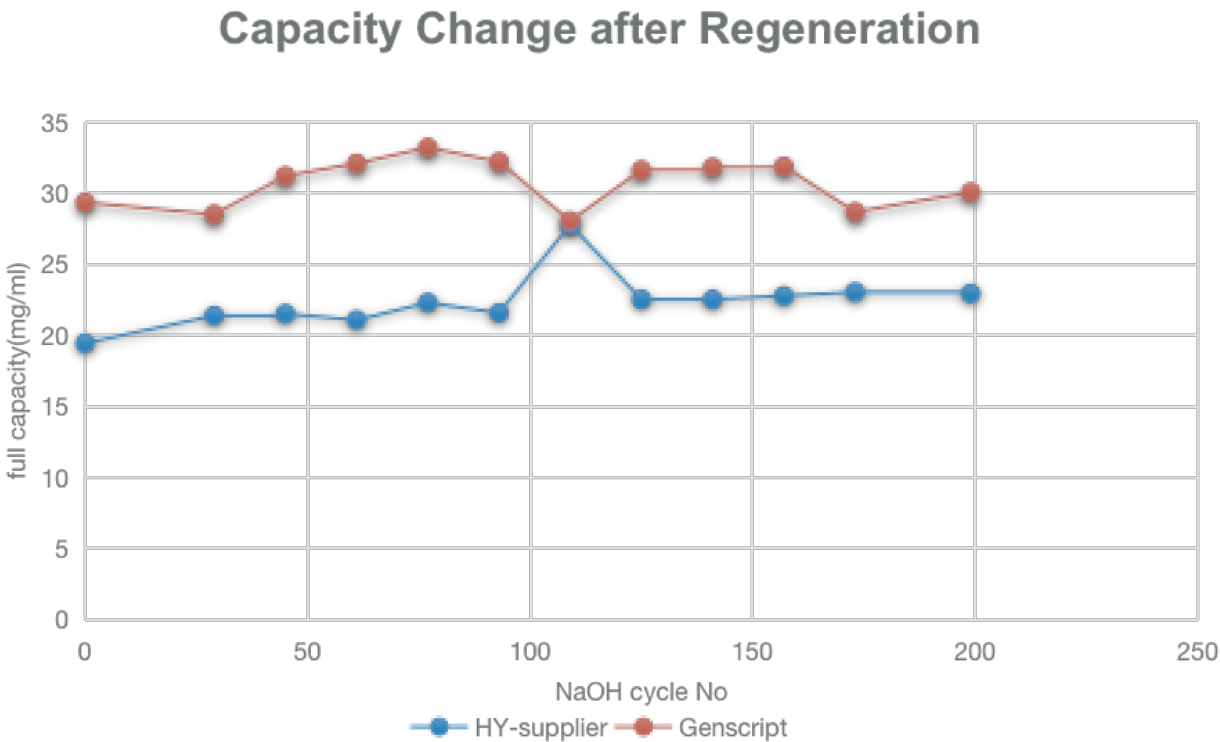
3 | 常见问题及解决

问题描述	原因分析	原因分析
纯化的目的蛋白产量低或无法检测	1.由于蛋白质折叠，未暴露组氨酸标签 2.加载的样本不足 3.蛋白质已降解 4.洗脱液不合适 5.洗脱或孵育时间不足 6.蛋白聚集在溶液中（binding 或洗脱液） 7.目的蛋白在洗杂步骤被洗掉	更多样品 3.在4 °C条件下完成纯化流程，使用蛋白酶抑制剂 4.增加洗脱液中的咪唑浓度 5.增加洗脱或孵育时间 6.加入Tween20/80或Triton-100，或其他非离子型表面活性剂（0.1-0.5%） 7.减少洗杂液中的咪唑浓度
纯化的目的蛋白纯度低或无法检测	1.磁珠清洗不彻底 2.样品中还有其他富含多组氨酸的蛋白质	1. 增加洗涤时间或洗涤缓冲液的体积。 2. 在洗脱步骤之前，请尝试使用较低pH值（介于pH 4和pH 6之间）的高严格性缓冲液再洗涤一次。 3. 尝试pH梯度洗脱或咪唑梯度洗脱。 4. 使用另一种磁珠或树脂进行第二次纯化。
磁珠的结合能力下降	1. 蛋白质或脂质聚集在磁珠上。 2. 磁珠重复次数太多。	1. 用NaoH 清洗磁珠 2. 使用新磁珠

应用案例一：AmMag™ Ni 磁珠耐碱性及耐EDTA 测试

测试AmMag™ Ni 磁珠耐碱性:

将1 ml纯磁珠放入AmMag SA 仪器，设置10 MV PBS 洗杂2次，10 MV 1 M NaOH 浸泡30分钟，循环200次。测试耐碱循环后的载量。



测试AmMag™ Ni 磁珠在EDTA 存在条件下的载量:

将1 ml纯磁珠放入AmMag SA 仪器，设置10 MV PBS 洗杂2次，10 MV 1M NaOH 浸泡30分钟，循环200次。测试耐碱循环后的载量。

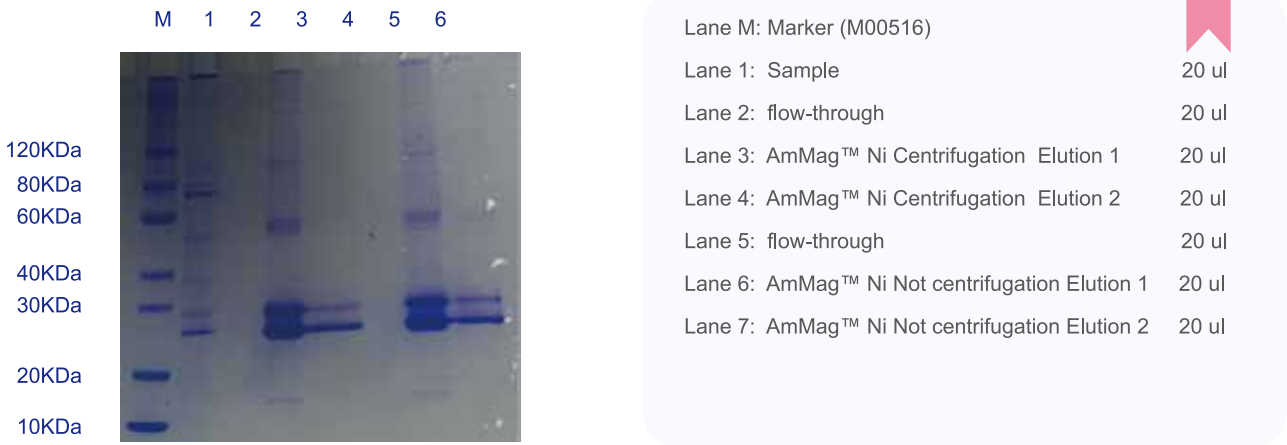
Cycle times	1	2	3	4	5	6
Capacity(mg/ml)	26.68	25.58	25.16	23.67	17.71	19.41

结论 金斯瑞AmMag™ Ni 磁珠重复高达200次，在高EDTA 浓度的条件下使用4-5循环载量开始下降。

应用案例二：使用AmMag™ Ni 磁珠纯化哺乳动物细胞中表达的His-tagged 蛋白

MagBeads	AmMag™ Ni MagBeads (GenScript 20181106-1)
Resin	1ml Ni-Excel Resin Prepacked column
Sample	IGF-BP-4(His Tag Protein expression by 293)
Equilibration buffer	PBS
Elution 1 buffer	25 mM Tris 300 mM NaCl,50 mM Imidazole (pH8.0)
Elution 2 buffer	25 mM Tris 300 mM NaCl,500 mM Imidazole (pH8.0)
Volume per sample	50 ml

Incubation temperature	Incubation time	Centrifugation	Volume of magbeads	Theoretical workload	Elution volume	Elution 1 (A280)	Elution 2 (A280)	Recovered protein (mg)	Recovery	A260/A280
RT	2 h	Yes	300 ul	2.5 mg/ml	2 ml	0.12	0.087	0.414	56.56%	0.96
		No	300 ul		2 ml	0.186	0.139	0.65	88.80%	1.15
4 ℃	overnight	Yes	300 ul		2 ml	0.151	0.04	0.382	52.19%	0.91
		No	300 ul		2 ml	0.185	0.044	0.458	62.57%	0.93
Ni-Excel Resin: Elution Volume:3 ml Elution Protein Concentration:0.244 mg/ml Eexpression:14.6 mg/L										

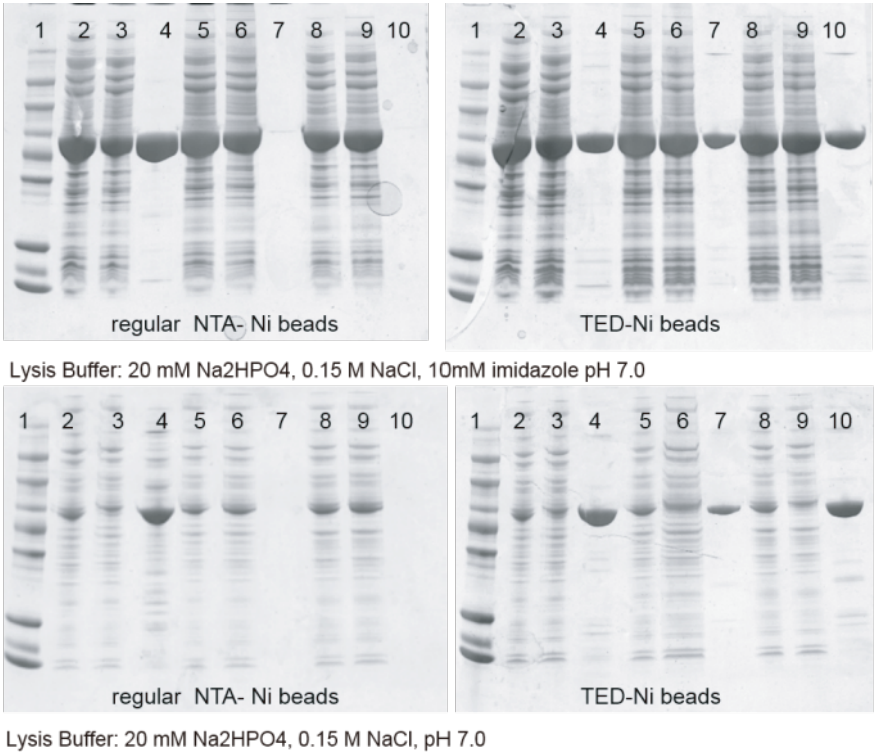


结论 金斯瑞AmMag™ Ni 磁珠可用于纯化哺乳动物细胞中表达的his-tagged 蛋白，纯度较高，得到的蛋白量与填料相当。

应用案例三：使用AmMag™ Ni 磁珠纯化哺乳动物细胞中表达的His-tagged 蛋白

样品: MBP 大肠杆菌裂解液
洗杂液: 20 mM Na₂HPO₄, 0.15 M NaCl, pH 7.0
洗脱液: 20 mM Na₂HPO₄, 0.15 M NaCl, 0.5M imidazole pH 7.0

结论 (1) 金斯瑞AmMag™ Ni 磁珠可耐受100 mM EDTA和10 mM DTT, 但Ni-NTA 磁珠不可以。
(2) 在裂解液中不加入10 mM 咪唑的情况下, 使用AmMag™ Ni 磁珠纯化的纯度较高。



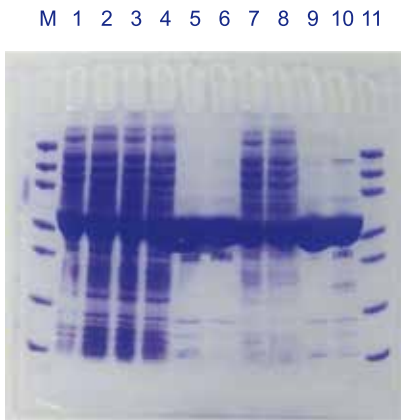
Lysis Buffer: 20 mM Na₂HPO₄, 0.15 M NaCl, pH 7.0

Lane 1: marker
Lane 2: protein solution (His-tag)
Lane 3: supernatant (His-tag)
Lane 4: elution (His-tag)
Lane 5: protein solution (His-tag +100 mM EDTA)
Lane 6: supernatant (His-tag +100 mM EDTA)
Lane 7: elution (His-tag +100 mM EDTA)
Lane 8: protein solution (His-tag +100 mM EDTA +10 mM DTT)
Lane 9: supernatant (His-tag +100 mM EDTA +10 mM DTT)
Lane 10: elution (His-tag +100 mM EDTA +10 mM DTT)

应用案例四：AmMag™ Ni 磁珠与竞品磁珠纯化结果对比

样品: MBP 大肠杆菌裂解液
洗杂液: 20 mM Na₂HPO₄, 0.15 M NaCl, pH 7.0
洗脱液: 20 mM Na₂HPO₄, 0.15 M NaCl, 0.5 M imidazole pH 7.0

结论 (1) 使用金斯瑞AmMag™ Ni 磁珠纯化得到的纯度与竞品相当。
(2) 金斯瑞AmMag™ Ni 磁珠的载量高于竞品。



Lane 1: stock solution (MBP)
Lane 2: stock solution (MBP + 100 mM EDTA)
Lane 3: supernatant (MBP) - HY magnetic beads
Lane 4: supernatant (MBP + 100 mM EDTA) - HY magnetic beads
Lane 5: elution (MBP) - HY magnetic beads
Lane 6: elution (MBP + 100 mM EDTA) - HY magnetic beads
Lane 7: Supernatant (MBP) - AmMag™ Ni magbeads
Lane 8: supernatant (MBP + 100 mM EDTA) - AmMag™ Ni magbeads
Lane 9: Elution (MBP) - AmMag™ Ni magbeads
Lane 10: Elution (MBP + 100 mM EDTA) - AmMag™ Ni magbeads
Lane 11: Marker

AmMag™ Ni bead	MBP Conc.	MBP Volume	Incubate Time	Bead volume	EDTA Conc	Load Capacity	Recovery
AmMag™ Ni (Lot No. 20180723)	4 mg/ml	1 ml	1 h	0.1 ml	100 mM	27.97 mg/ml	69.92%
HY-TED-Ni	4 mg/ml	1 ml	1 h	0.1 ml	100 mM	23.37 mg/ml	58.43%

ProteinG Magbeads MX 磁珠

Cat. NO. L00673

金斯瑞提供的 Protein G 磁珠将重组 Protein G 蛋白共价偶联到平均直径为 40 um 的超顺磁磁珠上。提供的磁珠在 20% 的乙醇中以 25% 的悬浊液形式存在。每毫升 Protein G 纯磁珠 (4 ml 25% 悬浊液) 可结合 25mg Human IgG。

经过重组表达的 Protein G(分子量~22KDa) 融合了 Protein A 和 Protein G 上的 IgG 结合位点。位于 N 端的 6xHis-tag 可以进一步辅助纯化。对于哺乳动物 IgG 的纯化，Protein G 比 Protein A 有更高的亲和力，特别是对于 Human IgG3, mouse IgG1 和 rat IgG2a。不同于 Protein A, Protein G 无法结合 Human IgM, IgD 和 IgA。

PROTOCOL

1 | 试剂准备

Exchange/Binding/Wash Buffer	20 mM NaH ₂ PO ₄ , 0.15 M NaCl, pH 7.0
Elution Buffer	0.1 M glycine or 0.1 M NaAc-HAc, pH 2-3
Neutralization Buffer	1 M Tris, pH 8.5

注：纯化包涵体时，将8 M尿素或6 M Gu•HCl 加入到Binding / Wash 和Elution 缓冲液中以提高蛋白质的溶解度。

2 | 磁力架纯化

(1) 磁珠制备

- ① 通过摇晃涡旋，重悬磁珠；
- ② 把磁珠转移到干净的离心管中；
- ③ 将离心管置于磁力架上，磁珠吸附于管壁，去除上清；
- ④ 按照1：10的比例加入exchange buffer 充分混匀，并用磁力架吸附磁珠，弃上清。重复此步骤两次。

(2) 样品孵育

- ① 取适量磁珠加入样品中充分混匀，盖紧瓶盖，用封口膜封口；
- ② 将样品置于旋转混合仪上, 室温孵育 1 h,使样品与磁珠充分接触。样品体积大于 50 ml 时, 需要在摇床孵育, 转速需要保证能够使磁珠悬浮起来（注意：转速太快会产生泡沫）。

(3) 洗杂

- ① 将孵育好的磁珠与样品置于磁力架上，弃上清或将上清转移至干净的容器中以备后续分析；
- ② 加入10 MV wash buffer，充分洗涤磁珠（注：MV指添加纯磁珠的体积）；
- ③ 将离心管置于磁力架上吸附磁珠，弃上清；
- ④ 重复洗杂步骤三次。

(4) 洗脱

- ① 加入适量elution buffer（推荐5-10 MV）到离心管中，充分混匀后在室温下置于无磁底座或试管架上静止孵育5分钟。孵育期间重悬磁珠2-3次；
- ② 将离心管置于磁力架上吸附磁珠，用移液枪将上清转入干净的EP管或离心管中；
- ③ 重复洗脱1-2次；
- ④ 加入适量中和液 (推荐每100 ul elute 加入10 ul 中和液)，混匀中和，进行下一步实验（如：脱盐，电泳检测等）。

(5) 磁珠回收

- ① Protein G 磁珠本身不耐碱，所以不可用NaOH 重复再生。为避免样品交叉污染，不建议重复使用磁珠纯化不同蛋白样品；
- ② 若纯化同一种蛋白可选用以下两种方法再生（再生后可使用3-4次）；
 - a. 加入10 MV 6 M盐酸胍或8 M尿素，浸泡30分钟，可以去除磁珠表面所有结合的蛋白，但载量会有所损失；
 - b. 加入10 MV低pH（2.0左右）的酸性溶液(如甘氨酸，醋酸钠)，浸泡30分钟，再加入PBS 洗涤磁珠三次。
- ③ 用20%乙醇重悬磁珠，置于4 ℃保存。短时间内可用exchange buffer 按1：1 重悬后，置于4 ℃保存。下次实验，混匀后可直接使用。

3 | 常见问题及解决

问题描述	原因分析	原因分析
磁珠不易被磁力架上的磁铁吸附	使用过多磁珠	减少磁珠使用量
以及加入大量样品，但只有少量特异性抗体被检测到	特异性抗体浓度过低	1.对于细胞上清样品，使用无血清培养基 2.将特异性抗原偶联到磁柱上进行亲和纯化
特异性抗体纯化后降解（在下游应用中没有功能）	1.抗体不适合低pH 的洗脱液 2.下游应用与中和buffer 不匹配	1.尝试另外的洗脱液配方（3.5 M MgCl2, 10 mM phosphate, pH 7.2） 2.对洗脱样品进行脱盐或透析处理，放入适合下游应用的buffer 中）
洗脱样品中检测不到任何抗体	样品中的抗体无法结合Protein G	尝试金斯瑞AmMag ProA 或者Protein A/G 磁珠



AmMag™ SA Plus 半自动化磁珠纯化仪

金斯瑞 AmMag™ SA Plus 半自动化磁珠纯化仪是一款基于磁珠纯化的自动化设备，用于高通量抗体筛选和蛋白纯化，是市面上唯一一款高通量磁珠纯化系统，兼容各种纯化磁珠，可用于纯化大体积的抗体或蛋白，兼顾多种 50 ml 离心管。且各孔一致性高，重复性好，系统稳定。仪器是高通量抗体或蛋白纯化的理想首选，省去了离心，过滤，装柱等操作，在全程无菌状态下，自动完成洗杂，洗脱和再生全流程。纯化效果媲美传统方法，操作简单解放人力，纯化时间最高节约 70%。

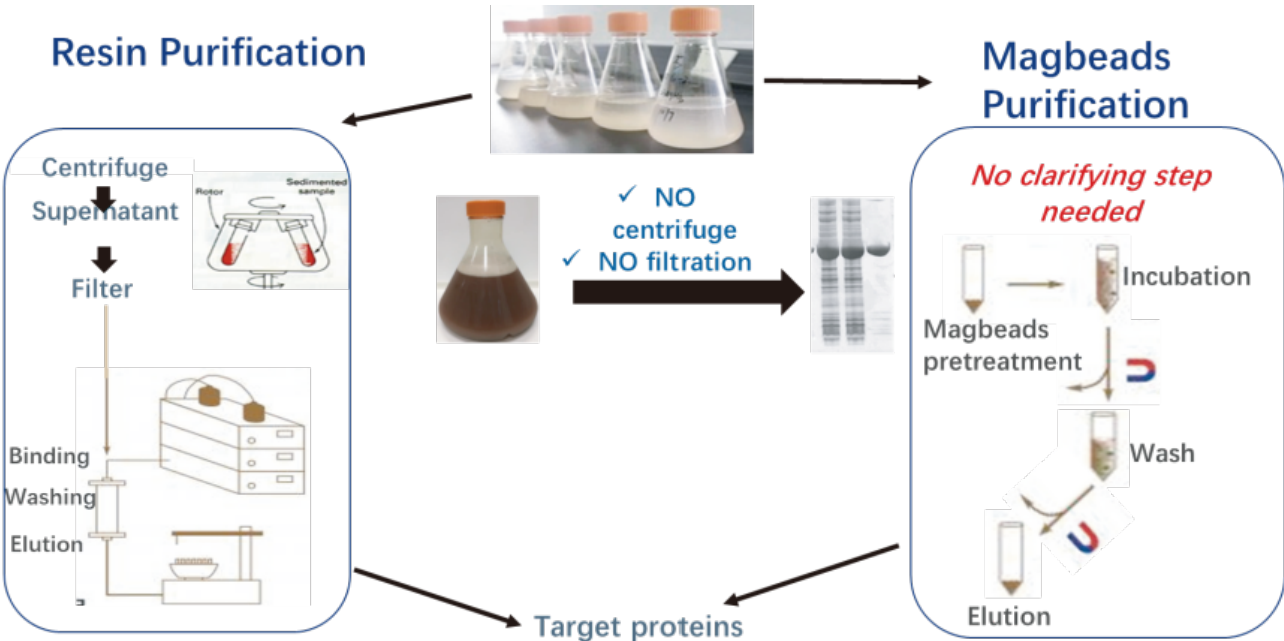


产品特点

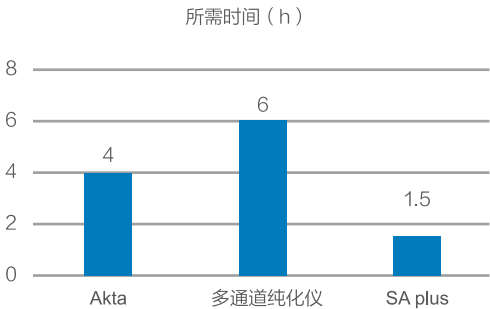
- 无菌低内毒：全封闭带紫外照射系统，无菌低内毒！
- 高效省时：高效处理12个样品（单个样品体积2-50 ml）时间少于45分钟
- 方便快捷：样品无需离心和过滤，12通道可单独设置程序
- 兼容性高：兼容各种磁珠介质，洗杂洗脱五个管道可以根据需求组合。

应用案例一：50 ml抗体样品多通道纯化

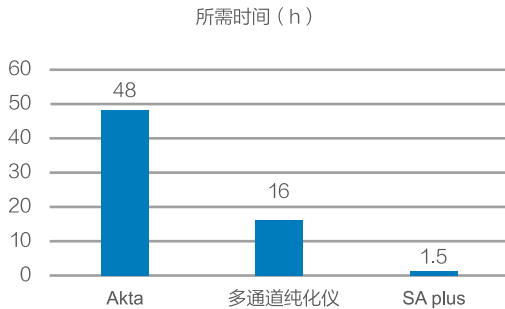
目前,抗体的纯化主要通过两种途径进行,柱层析和磁珠纯化。约70-80%的抗体纯化是使用ProteinA 和ProteinG 的层析方法。该方法多依靠AKTA 设备进行,样品前处理步骤繁多,处理时间长,工作效率低。随着后基因组学时代的到来,科研工作者对抗体的高通量纯化需求迫切,借助磁珠的高通量抗体纯化方法开始成为科研工作者感兴趣的选择。



以50 ml抗体纯化为例,分别使用AKTA, 多通道纯化仪-T和AmMag™ SA plus 进行实验,通过AmMag™ SA plus 磁珠纯化,可省去样本前处理步骤,减少蛋白损失,12个通道高通量纯化,与样品孵育后, 0.5 h可完成实验操作,大大提高工作效率。



不同平台50 ml单个样本纯化时长对比



不同平台12个样本(50 ml)纯化所需时长对比

应用案例一：50 ml抗体样品多通道纯化

continue

不同平台50 ml单个样本纯化时长对比

	通道	样本处理	样本过滤	柱平衡	上样	洗杂	洗脱	总时间
AKTA	1	1 h	0.5 h	0.5 h	1 h	0.5 h	0.5 h	4 h
多通道纯化仪-Te	8	1 h	2 h	1 h	1 h	0.5 h	0.5 h	6 h
GenScript AmMag™ SA plus	12	1 h	0 h	0 h	0 h	0.2 h	0.3 h	1.5 h

注：其中AmMag™ SA Plus 的样本处理1 h为样本和磁珠的孵育时间，无需其他处理操作。

不同平台12个样本(50 ml/样)纯化所需时长对比

	通道	样本处理	样本过滤	柱平衡	上样	洗杂	洗脱	重生	总时间
AKTA	1	6 h	3 h	6 h	12 h	6 h	6 h	9 h	48 h
多通道纯化仪-Te	8	6 h	3 h	2 h	1 h	1 h	1 h	3 h	16 h
GenScript AmMag™ SA plus	12	1 h	0 h	0 h	0 h	0.2 h	0.3 h	0 h	1.5 h

注：其中AmMag™ SA Plus 的样本处理1 h为样本和磁珠的孵育时间，无需其他处理操作。

结论 在进行单个抗体样本纯化时，AmMag™ SA plus 磁珠纯化仪可省去纯化样本前处理步骤，缩短纯化时间。进行多样本纯化时，AmMag™ SA plus 磁珠纯化可大大提高工作效率10倍以上，结合金斯瑞配套磁珠，纯度，得率跟传统方式相比没有差距，但是效率提高很多。(具体数据请参见protein A 磁珠应用部分。)

应用案例二：小体积样本纯化

12个5 ml抗体样本需要纯化，分别选用T公司核酸和蛋白质纯化系统和Genscript AmMag™ SA Plus 磁珠纯化仪进行纯化。

	Genscript AmMag™ SA Plus	公司 T 纯化仪
样品体积	5 ml	5 ml
磁珠体积	100 ul	100 ul
Wash 体积	2 ml	2 ml
ddH ₂ O 体积	2 ml	2 ml
Elution 体积	0.5 ml	0.5 ml
磁珠损失	较少，肉眼不可见	较多，有磁珠吸附在孔板上
抗体回收率	85%	80%

- 结论
- (1) AmMag™ SA Plus 能够纯化2-5 ml样品。

(2) 相对于竞品更少的磁珠损失，更高的抗体回收率。

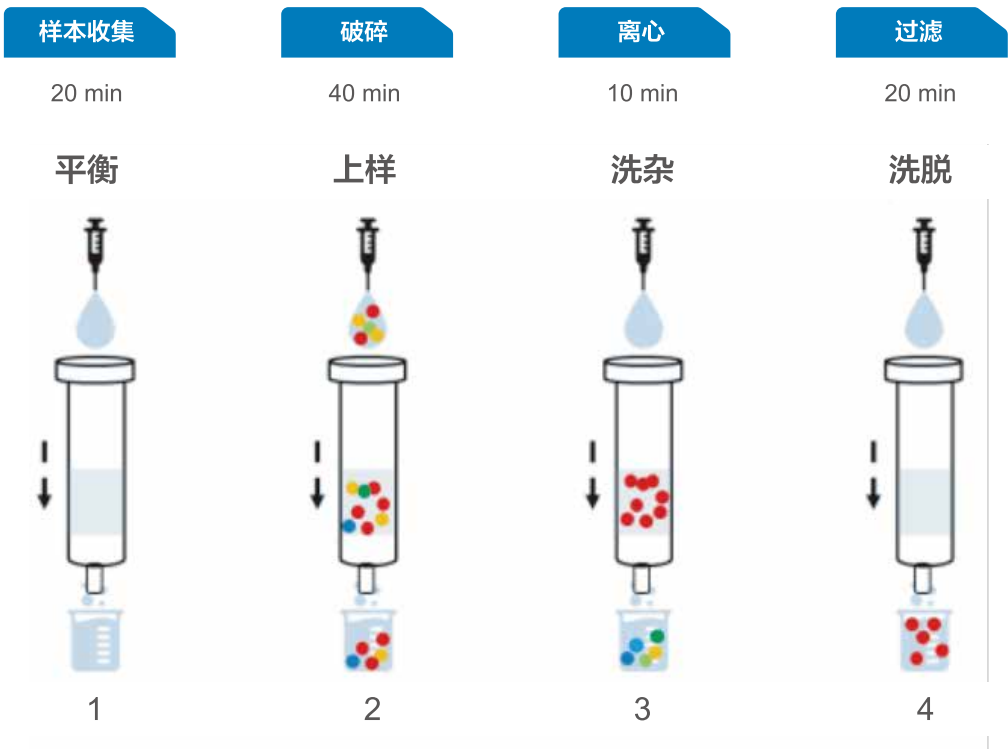
注意事项

1. 当样品体积小于5 ml时，自行选择合适体积的容器，加入至少100 ul磁珠进行孵育反应。

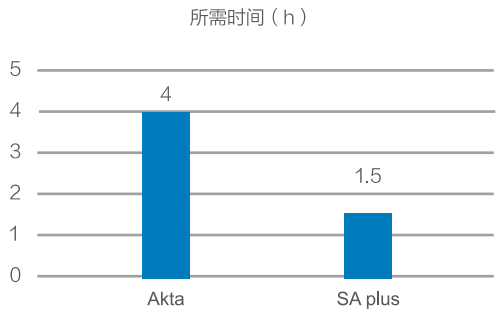
2. 孵育完成后，把样本和磁珠一起转移到AmMag™ SA plus 配套的50 ml反应离心管中，进入后续的洗杂，洗脱等步骤。

应用案例三：多通道纯化融合蛋白对比

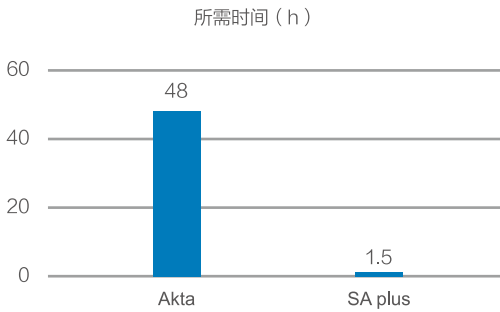
重组蛋白有很多应用，包括抗原制备，蛋白相互作用，酶学分析和药物靶点研究。重组蛋白的表达，纯化对其下游的应用至关重要。选择合适的表达系统和纯化方法，对保持蛋白的功能，生产的成本有着重要的影响。目前重组蛋白的纯化多以AKTA 层析方法为主。常规的AKTA 纯化步骤如下：以50 ml粗液为例。



在进行多种类蛋白研究时，特别是对蛋白进行突变或抗体序列突变的生物药研究中，往往需要对多个蛋白进行纯化，此时，通过单通道的AKTA 进行纯化，显得比较吃力。



纯化50 ml重组蛋白原液所需时间对比



2个样本（50 ml）纯化所需时长对比

应用案例三：多通道纯化融合蛋白对比

continue

	通道	样本处理	样本过滤	柱平衡	上样	洗杂	洗脱	总时间
AKTA	1	1 h	0.5 h	0.5 h	1 h	0.5 h	0.5 h	4 h
AmMag™ SA plus	12	1 h	0 h	0 h	0 h	0.2 h	0.3 h	1.5 h

注：其中AmMag™ SA Plus 的样本处理1 h为样本和磁珠的孵育时间，无需其他处理操作。

12个样本（50 ml/样）纯化所需时长对比（与AKTA）

	通道	样本处理	样本过滤	柱平衡	上样	洗杂	洗脱	重生	总时间
AKTA	1	6 h	3 h	6 h	12 h	6 h	6 h	9 h	48 h
AmMag™ SA plus	12	1 h	0 h	0 h	0 h	0.2 h	0.3 h	0 h	1.5 h

注：其中AmMag™ SA Plus 的样本处理1 h为样本和磁珠的孵育时间，无需其他处理操作。

金斯瑞的 AmMag™ SA plus 磁珠纯化系统能够减少多批次纯化带来的实验误差，同时，提高实验效率达 10 倍以上。以纯化 50 ml 样本原液为例，使用 AKTA 蛋白纯化，需要花费近 3-4 h 的时间，且需要对样品进行破碎、离心过滤处理。而使用 AmMag™ SA plus 可同时进行 12 个通道的样品同时纯化,不需等待,2.5 h 即可完成全部纯化。

结论 使用genscript 的半自动磁珠纯化，配合NI-NTA 磁珠，可实现重组蛋白的高通量大体积纯化，且纯度，得率跟传统方式相比没有差距。

应用案例四：低丰度抗体纯化案例

在实际的实验中，我们会经常遇到目的蛋白或抗体表达量低的现象，这就对蛋白或抗体纯化方法提出更高的要求，常规的柱层析方法，就需要对低丰度蛋白进行富集处理，再进行纯化，比较费时。金斯瑞AmMag™ SA Plus 磁珠纯化仪配合 Protein A 磁珠可针对0.02 mg/ml的样本进行高通量纯化，且能得到较高的回收率。

Resin Purification Result

Incubation temperature	Incubation time	Type of magbeads	Type of sample	Sample con	Volume of magbeads	Volume of sample	Theoretical workload	Amount of recovered antibody (mg)	Recovery rate
4 ℃	overnight	AmMag™ Protein A Magnetic Beads	hIgG freezedried powder	0.02 mg/ml	50 ul	50 ml	20 mg/ml	0.704	70.35%
					100 ul	50 ml	10 mg/ml	0.756	75.60%
					200 ul	50 ml	5 mg/ml	0.760	76.00%
RT	2 h		hIgG freezedried powder	0.02 mg/ml	200 ul	50 ml	5 mg/ml	0.815	81.50%
					400 ul	50 ml	2.5 mg/ml	0.816	81.60%
					1000 ul	50 ml	1 mg/ml	0.770	77.00%
37 ℃	overnight		hIgG freezedried powder	0.02 mg/ml	50 ul	50 ml	20 mg/ml	0.536	53.55%
					100 ul	50 ml	10 mg/ml	0.635	63.45%
					200 ul	50 ml	5 mg/ml	0.610	61.00%

Magnetic Bead Purification Result

Type of resin	Type of sample	Sample con	Flow rate	Elution volume	Amount of recovered antibody	Recovery rate
Mabselect sure 1 ml prepacked column	hlgG freeze-dried powder	0.02 mg/ml	0.4 ml/min	3 ml	0.658 mg	65.80%

结论 针对低浓度或低丰度表达的样本，推荐磁珠的使用浓度为5 mg/ml，通过AmMag™ SA plus 纯化方法，可得到比通过resin 纯化更好的样本回收率。

应用案例五：提高一步洗脱回收率案例

样品：单抗，双抗，单抗等
置换液：PBST（1×PBS, 0.1% Tween 20，pH 7.0）
洗杂液1: 0.1 M Tris, pH 8.0
洗杂液2: ddH₂O
洗脱液: 0.1 M Glycine pH 3.5

实验步骤：

- 1、样品孵育：
- (1) 将固液比25%的Protein A 磁珠混合均后转移到离心管中，将离心管放入磁力架上，磁吸，倒掉磁珠混合液中的液体。用1X PBST 溶液将磁珠进行平衡，共三次。
- (2) 根据前期SDS-PAGE 图推测40 ml样品中含有蛋白约1-5 mg，根据预计蛋白量和磁珠工作载量分别在样品中加入200-400 ul 纯磁珠。放入旋转混合仪，室温旋转孵育2 h，转速在水平方向0°。

样品编号	样品类型	预计蛋白含量	工作载量	加入磁珠
1	双抗	8 mg	20 mg/mL	400 uL
2	双抗	8 mg	20 mg/mL	400 uL
3	双抗	1 mg	10 mg/mL	200 uL
4	双抗	1 mg	10 mg/mL	200 uL
5	双抗	1 mg	10 mg/mL	200 uL
6	单抗	2 mg	20 mg/mL	300 uL

- 2、SA Plus 仪器测试：
- (1) 分别配制0.1M Tris(pH8.0)，50mM HCl 溶液，0.1M NaOH 溶液，0.1M 甘氨酸溶液(pH3.5)
- (2) 将室温孵育两小时的样品放入仪器中，程序设置界面如下：（不鼓泡）

类型	Wash	Wash	Wash	Wash	Wash	Wash
管道	1	2	3	4	5	
循环	3	2	3	0	0	
Magbeads	Wash	Wash	Elution	Wash	Wash	Elution Time
0.2-0.4 ml	10 MV	5 MV	9 MV	N/A	N/A	10 Min

应用案例五：提高一步洗脱回收率案例

continue

- (3) 将Port1 管路放入0.1M Tris 溶液(pH=8.0) 中，Port2 管路放入ddH₂O 中，Port3 管路放入0.1M 甘氨酸溶液(pH3.5) 中,NaOH 管路放入0.1M NaOH 中，cleaning buffer 管路放入50 mM HCl 溶液中。
- (4) 仪器第一次洗脱完成后，将洗脱buffer 收集至EP 管中，使用Nano Drop 测试洗脱抗体的浓度，根据加入的洗脱液体积， 计算得到的抗体的量。
- (5) 点击开始，进行第二次洗脱，将洗脱buffer 收集至EP 管中（抗体量计算方式同上）
- (6) 两次洗脱蛋白量和得率如下：

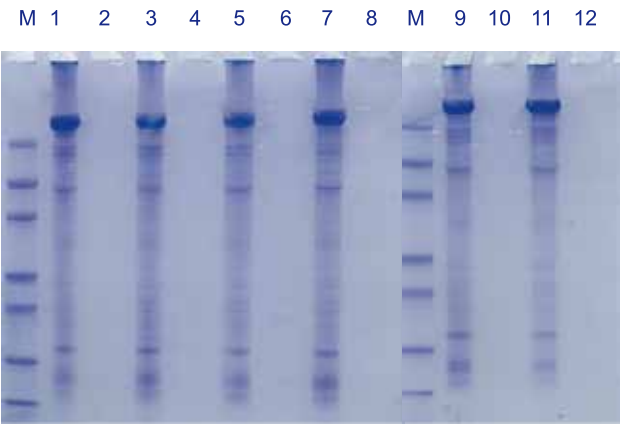
样品编号	第一步	第二步	总蛋白	第一步得率
1	7.86 mg	0.51 mg	8.37 mg	93.91%
2	9.07 mg	0.59 mg	9.66 mg	93.89%
3	0.81 mg	0.02 mg	0.83 mg	97.59%
4	0.61 mg	0.01 mg	0.62 mg	98.39%
5	0.63 mg	0.02 mg	0.65 mg	96.92%
6	1.98 mg	0.06 mg	2.04 mg	97.06%

注：如加入纯磁珠体积大于800 ul，洗脱液体积可以为5 MV。

应用案例六：AmMag™ SA plus 磁珠再生功能测试

实验步骤：

- 1.取0.5 ml的磁珠分别放入50 ml的离心管中，共6份，加入10倍磁珠体积的PBS 进行清洗平衡，共3次。
- 2.分别取8 ml的发酵液，加入至用PBS 平衡好的磁珠中
- 3.放入旋转培养器中室温孵育1 h
- 4.放入AmMag SA 中进行纯化：PBS 洗3次，10倍磁珠体积；ddH₂O 洗1次， 10倍磁珠体积；Elution 洗2次，5倍磁珠体积,洗脱时间10 min/次；收集洗脱液并加入1/10倍磁珠体积的1 M Tris-HCl 回调pH
- 5. 洗脱完成后，取10 ul磁珠作为留样，剩余的磁珠执行仪器的CIP 程序：5 ml的PBS洗3次； 0.1M NaOH洗两次，体积分别为5 ml，10 ml，15 ml，每个体积做两个平行，每次15 min，中途每隔2 min仪器吹打磁珠一次； 再用5 ml的PBS 洗3次。
- 6.取碱处理前和碱处理后的磁珠各10 ul，加入20 ul的去离子水，再加入30 ul的2×loading buffer，室温混匀10 min，取上清液跑电泳。



Lane M:	Marker(M00516)
Lane 1:	样品1 碱处理前
Lane 2:	样品1 5 ml碱处理后
Lane 3:	样品2 碱处理前
Lane 4:	样品2 5 ml碱处理后
Lane 5:	样品3 碱处理前
Lane 6:	样品3 10 ml碱处理后
Lane 7:	样品4 碱处理前
Lane 8:	样品4 10 ml碱处理后
Lane 9:	样品5 碱处理前
Lane 10:	样品5 15 ml碱处理后
Lane 11:	样品6 碱处理前
Lane 12:	样品6 15 ml碱处理后
电泳时上样量均为20 ul	

AmMag™ SA plus 磁珠再生功能测试结果：

- (1) 使用AmMag™ SA plus 可以完成磁珠的再生；
- (2) 建议在磁珠再生时选择20 CV或30 CV磁珠体积的NaOH 溶液进行清洗再生。



产品目录

应用领域	目录编号	产品名称
抗体纯化	L00695	AmMag™ Protein A Magnetic Beads
	L00673	Protein G MagBeads MX
	L00277	Protein A/G MagBeads
标签蛋白纯化	L00295	Ni-charged MagBeads
	L00776	AmMag™ Ni Magnetic beads
	L00327	Glutathione MagBeads
	L00424	Streptavidin MagBeads
	L00835	MonoRab™ Anti-DYKDDDDK Magnetic Bead
磁力架	L00722	AmMag™ MR-mini
	L00723	AmMag™ MR