

## rProtein G Beads

货号: AC14005

规格: 2ml/10ml

保存: 2-8°C

产品介绍:

Protein G 是一种分离自 G Streptococci 的细胞壁蛋白, 它可通过其 Fc 片段结合哺乳动物 IgG。重组 protein G 含有高亲和结合位点, 减少了非特异性吸附。Protein G 和 Protein A 有不同的 IgG 结合特性, 相比 Protein A, Protein G 对牛、羊、马等多克隆抗体有更强的结合力, 它还可以结合不能与 Protein A 很好结合的大鼠 IgG、人 IgG3 和小鼠 IgG1, 具体结合能力见表。

产品性能:

指标	性能
基质	4%琼脂糖微球
配体	重组蛋白 G
载量	>30mg 人 IgG/ml 介质
粒径(μm)	45-165
最大流速	0.1 MPa, 1 bar
pH 稳定范围	3-12
储存缓冲液	20%乙醇
储存温度	2°C-8°C

ProteinA 和 ProteinG 对不同抗体的结合能力:

种属	亚型	Protein A	Protein G
Human	IgA	variable	—
	IgD	—	—
	IgE	—	—
	IgG1	++++	++++
	IgG2	++++	++++
	IgG3	—	++++
	IgG4	++++	++++
	IgM	variable	—
Avianeggolk	IgY	—	—
Cow		++	++++
Dog		++++	++

<b>Goat</b>		—	++++
<b>Guineapig</b>	<b>IgG1</b>	++++	++
	<b>IgG2</b>	++++	++
<b>Hamster</b>		+	++
<b>Horse</b>	<b>TotalIgG</b>	++	++++
<b>Koala</b>		—	+
<b>Llama</b>		—	+
<b>Monkey(rhesus)</b>		++++	++++
<b>Mouse</b>	<b>IgG1</b>	+	++++
	<b>IgG2a</b>	++++	++++
	<b>IgG2b</b>	+++	+++
	<b>IgG3</b>	++	+++
	<b>IgM</b>	variable	—
<b>Pig</b>		+++	+++
<b>Rabbit</b>	<b>TotalIgG</b>	++++	+++
<b>Rat</b>	<b>IgG1</b>	—	+
	<b>IgG2a</b>	—	++++
	<b>IgG2b</b>	—	++
	<b>IgG3</b>	+	++
<b>Sheep</b>	<b>TotalIgG</b>	+/-	++

++++=结合能力强； ++=结合能力中等； —=结合能力弱或没有结合

#### 纯化流程：

##### 1、Buffer 的准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22 $\mu$ m 或 0.45 $\mu$ m 滤膜过滤。

结合/洗杂 Buffer: 0.15MNaCl, 20mMNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH7.0

洗脱 Buffer: 0.1M 甘氨酸, pH3.0

中和液: 1MTris-HCl, pH8.5

##### 2、样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用结合/洗杂缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用结合/洗杂缓冲液透析。

样品在上样前建议离心或用 0.22 $\mu$ m 或 0.45 $\mu$ m 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

##### 3、样品纯化

1)将 rProtein G Beads 装入合适的层析柱，层析用 5 倍柱体积的结合 Buffer 进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下，起到保护蛋白的作用。

2)将样品加到平衡好的 rProtein G Beads 中(保证目的蛋白与 rProtein G Beads 充分接触,提高目的蛋白的回收率),收集流出液。

3)用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗,去除非特异性吸附的杂蛋白,收集洗杂液。

4)使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer,收集洗脱液,即目的蛋白组分。

5)依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料,最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡,然后保存在等体积的 20%的乙醇中,置于 4 度保存,防止填料被细菌污染。

#### 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。

#### 填料清洗

rProtein G Beads 可以重复使用而无需再生,但随着一些变性物质的沉淀和蛋白的聚集,往往造成流速和结合载量都下降,严重影响柱子的性能,这时需要对树脂进行清洗。

#### 去除一些沉淀或变性物质

用 2 倍柱体积的 6M 盐酸胍溶液进行清洗,然后立即用 5 倍柱体积的 PBS,pH7.4 清洗。

#### 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 2 倍柱体积的 1%TritonX-100 清洗,然后立即用 5 倍柱体积的 PBS,pH7.4 清洗。

#### 问题及解决方案

	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	按照填料清洗部分进行树脂清洗 裂解液中含有微小的固体颗粒,建议上柱前使用滤膜(0.22or0.45 $\mu$ m)过滤,或者离心
样品纯化过程中曲线不稳	样品或 buffer 中有气泡	去除样品或柱子中的气泡
		样品和 buffer 进行脱气
洗脱组分中没有目的蛋白	样品中抗体浓度太低	使用其抗原做配体的介质
	抗体被降解	适当的提高洗脱 pH
	样品与 Protein G 结合能力差	将样品脱盐或透析到合适的 Buffer 中更换介质,如 rProtein A Beads 进行纯化
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	按照填料清洗部分进行树脂清洗

