

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

产品包装: 1×5ml (1×10ml 50% slurry) □ 2×5ml (2×10ml 50% slurry) □

1. 产品简介

rProtein G Beads是用于分离和纯化IgG的亲层层析介质，具体性能见表1。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2。本产品具有很高的物理化学稳定性，配基不易脱落，寿命长，使用方便，应用广泛。

表1. rProtein G Beads产品性能

指标	性能
基质	4%琼脂糖微球
形状	球形
配体	重组蛋白G
载量	>30mg 人IgG/ml介质
粒径 (μm)	90 (45-165)
最大压力	0.1MPa, 1 bar
最高流速25°C	450cm/h
推荐流速25°C	<150cm/h
pH 稳定范围	3-10 (长时间) ; 2-11 (短时间) ;
储存缓冲液	含20% 乙醇的1XPBS
储存温度	2°C - 8°C

表2. Protein A和Protein G对不同抗体的结合能力

种属	亚型	Protein A 结合力	Protein G 结合力
Human	IgA	variable	—
	IgD	—	—
	IgE	—	—
	IgG1	++++	++++
	IgG2	++++	++++
	IgG3	—	++++
	IgG4	++++	++++
	IgGM	variable	—

Avian egg yolk	IgY	—	—
Cow		++	++++
Dog		++	+
Goat		—	++
Guinea pig	IgG1	++++	++
	IgG2	++++	++
Hamster		+	++
Horse		++	++++
Koala		—	+
Llama		—	+
Monkey(rhesus)		++++	++++
Mouse	IgG1	+	++++
	IgG2a	++++	++++
	IgG2b	+++	+++
	IgG3	++	+++
	IgGM	variable	—
Pig		+++	+++
Rabbit	no distinction	++++	+++
Rat	IgG1	—	+
	IgG2a	—	++++
	IgG2b	—	++
	IgG3	+	++
Sheep		+/-	++

++++ = 结合能力强; ++ = 结合能力中等; — = 结合能力弱或没有结合

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0.22μm或0.45μm滤膜过滤。

结合/ 洗杂缓冲液 : 0.15M NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, pH 7.0 **洗脱缓冲液** : 0.1M甘氨酸, pH 3.0 **中和液** : 1M Tris-HCl, pH8.5

2.2 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/洗涤缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用结合/洗涤缓冲液透析。样品在上样前建议离心或用0.22μm或0.45μm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

- 1) 将rProtein G Beads装入合适的层析柱，层析用5倍柱体积的结合液进行平衡，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倍柱体积的洗杂液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 4) 使用5-10倍柱体积的洗脱液，收集洗脱液，即目的蛋白组分。
- 5) 依次使用3倍柱体积的结合液和5倍柱体积的去离子水平衡填料，最后用5倍柱体积的20%的乙醇平衡，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。

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. 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, pH 7.4 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% Triton™ X-100 清洗，然后然后立即用5倍柱体积的PBS, pH 7.4清洗。

4. 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	按照第3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（0.22或0.45μm）过滤，或者离心去除。
样品流速过低	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结合能力较弱	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	按照第3部分进行树脂清洗

仅供研究，不得用于临床诊断