

蛋白 G 高速层析介质（4FF）预装柱

Protein G Beads 4FF Column

货号	规格
BDTL0004-11	1×1ml
BDTL0004-51	5×1ml
BDTL0004-15	1×5ml
BDTL0004-55	5×5ml
BDTL0004-3115	3×1ml+1×5ml

1. 产品介绍

本品是一种中压预装柱，有 1ml 和 5ml 两种规格，分别填装 1ml 和 5ml 蛋白 G 高速层析介质（4FF）。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。

蛋白 G 高速层析介质（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单克隆抗体和多克隆抗体的纯化（具体性能见下表），被广泛应用于工业纯化。

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，具体结合能力见附表。

蛋白 G 高速层析介质（4FF）性能表

指标	性能
基质	高度交联的 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	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	3-12
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	2°-8°C

2. 纯化流程

2.1 Buffer 的准备

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

结合/洗杂 Buffer: 0.15M NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, pH 7.0

洗脱 Buffer: 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 0.22 μ m 或 0.45 μ m 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

以使用 ÄKTA 仪器为例。

1. 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子, 将层析柱连接至色谱系统中。再折断下口, 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存储缓冲液。
3. 使用至少 5 倍柱床体积的结合 Buffer 平衡色谱柱。1ml 预装柱推荐流速为 1ml/min, 5ml 预装柱推荐流速为 5ml/min。
4. 利用泵或注射器上样。

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 Buffer 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. 用洗脱 Buffer 采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中, 通常 5 倍柱体积洗脱液就足够了。可以用一个小的梯度, 例如 20 倍柱体积或更多, 来分离不同结合强度的蛋白质。

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

本层析介质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, 这时需要对层析介质进行清洗。

➤ 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部分进行层析介质清洗 裂解液中含有微小的固体颗粒, 建议上柱前使用滤膜 (0.22 or 0.45 μm) 过滤, 或者离心去除。
样品流速过低	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 将样品脱盐或透析到合适的Buffer中
	样品与蛋白G结合能力较弱	更换介质, 如蛋白A层析介质进行纯化
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部分进行层析介质清洗

5. 抗体纯化介质一览表

通用性抗体纯化产品		
蛋白 A 层析介质 (普通型、高载量、特异性优良)	BDTL0001-1	1ml
	BDTL0001-5	5ml
	BDTL0001-25	25ml
	BDTL0001-100	100ml
蛋白 A 重力预装柱套装	BDTL0001-K	套
蛋白 A 高速层析介质 (4FF) (高流速、高载量、特异性优良、耐压)	BDTL0002-5	5ml
	BDTL0002-25	25ml
	BDTL0002-100	100ml
蛋白 A 高速层析介质 (4FF) 预装柱 (预装柱、高流速、高载量、配套 BioRad 和 GE 等公司机器)	BDTL0002-11	1×1ml
	BDTL0002-51	5×1ml

	BDTL0002-15	1×5ml
	BDTL0002-55	5×5ml
	BDTL0002-3115	3×1ml+1×5ml
蛋白 G 层析介质 (普通型、高载量、特异性优良)	BDTL0003-1	1ml
	BDTL0003-5	5ml
	BDTL0003-25	25ml
	BDTL0003-100	100ml
蛋白 G 重力预装柱套装	BDTL0003-K	套
蛋白 G 高速层析介质 (4FF) (高流速、高载量、特异性优良、耐压)	BDTL0004-5	5ml
	BDTL0004-25	25ml
	BDTL0004-100	100ml
蛋白 G 高速层析介质 (4FF) 预装柱 (预装柱、高流速、高载量、配套 BioRad 和 GE 等公司机器)	BDTL0004-11	1×1ml
	BDTL0004-51	5×1ml
	BDTL0004-15	1×5ml
	BDTL0004-55	5×5ml
	BDTL0004-3115	3×1ml+1×5ml
蛋白 A/G 高速层析介质 (4FF) (用于 IP、Co-IP 实验)	BDTL0021-5	5ml
	BDTL0021-25	25ml
	BDTL0021-200	200ml
蛋白 L 层析介质 (结合更广泛来源及亚类的抗体)	BDTL0022-5	5ml
	BDTL0022-25	25ml
	BDTL0022-200	200ml
单克隆抗体纯化产品		
蛋白 A 高速耐碱层析介质 (4FF) (耐碱、高流速、高载量、特异性优良、耐压、高稳定性)	BDTL0005-10	10ml
	BDTL0005-100	100ml
	BDTL0005-500	500ml
蛋白 A 高速耐碱层析介质 (4FF) 预装柱 (预装柱、耐碱、高流速、高载量、耐压、高稳定性、配套 BioRad 和 GE 等公司机器)	BDTL0005-11	1×1ml
	BDTL0005-51	5×1ml
	BDTL0005-15	1×5ml
	BDTL0005-55	5×5ml
	BDTL0005-3115	3×1ml+1×5ml

多克隆抗体纯化产品

预活化层析介质（抗原偶联专用） （预活化层析介质，可以和氨基、巯基反应，用来偶联蛋白、核酸、小分子等。适合偶联抗原纯化多克隆抗体）	BDTL0006-5	5ml
	BDTL0006-25	25ml
	BDTL0006-100	100ml
亲疏层析介质 （快速从血清、腹水或组织培养液中纯化抗体）	BDTL0025-5	5ml
	BDTL0025-10	10ml
	BDTL0025-50	50ml
	BDTL0025-250	250ml

附表 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	++++	++++
	IgM	Variable	-
Avian egg yolk	IgY	-	-
Cow		++	++++
Dog		++	+
Goat		-	++
Guinea pig	IgG1	++++	++
	IgG2	++++	++
Hamster		+	++
Horse		++	++++
Koala		-	+
Liama		-	+
Monkey (rhesus)		++++	++++
Mouse	IgG1	+	++++
	IgG2a	++++	++++
	IgG2b	+++	+++

	IgG3	++	+++
	IgM	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