

Version: 02
 Update: 09/30/2022

Protein G 亲和层析介质

Cat. No. L00209

目录

I. 产品描述	1
II. 使用前准备.....	2
III. 纯化步骤	2
IV. 故障排除	3
V. 订购信息	3

I. 产品描述

金斯瑞 Protein G 亲和层析介质是一种能从生物体液、细胞培养基中便捷、一站式纯化免疫球蛋白及其子类或片段的亲和层析介质。它是由重组的 Protein G 蛋白结合到 4%的琼脂糖构成。每 ml 的 Protein G 亲和层析介质可以结合超过 20mg 的羊IgG。层析介质的吸附总量主要由几个因素决定，如目的抗体的总量，流速等。Table 1 lists 介绍了Protein G 亲和层析介质的主要特性。

Protein G 蛋白发现于 G 类链球菌细胞壁，它可以通过 Fc 片段与哺乳动物的IgGs 结合。天然的 Protein G 有 3 个 IgGs 结合位点，同时还有白蛋白和细胞表面结合位点。重组 Protein G 去除了这些多余的结合位点，只保留 IgGs 结合位点，减少了交叉反应和非特异性吸附。虽然Protein G 和 Protein A 的三级结构非常相似，但是他们的氨基酸序列却有很大的差别，因此它们的特征也截然不同。Protein G 能够用于纯化一些不能与Protein A 很好结合的哺乳动物单克隆或多克隆 IgGs。对于多数的哺乳动物 Protein G 蛋白比 Protein A 有着更高的亲和力，如人 IgG3，鼠 IgG1 和兔 IgG2a。与 Protein A 不同，Protein G 不能和人的 IgM，IgD 和IgA 结合。

Table 1 .Protein G 亲和层析介质主要特征

柱体积	5 ml (10 ml 总体积 50% slurry)
配体	大肠杆菌中表达的重组 Protein G 蛋白
IgG 结合位点数量	3
配体大小	22 KD
配体 PI 值	4.69
配体结合程度	每 ml 填料结合大约 2 mg Protein G 蛋白
吸附量	每 ml 填料吸附量>20 mg 羊 IgG
平均粒径	90 μm (45-165μm)
保护液	1x PBS+20%乙醇
存储条件	2-8°C; 严禁冻结

II. 使用前准备

试剂准备

使用的试剂和水必须比较洁净，配制完成后请用0.45 μm 的滤器进行过滤。

Binding/Wash Buffer: 20 mM Na₂HPO₄, 0.15 M NaCl, PH=7.0

Elution Buffer: 0.1 M 甘氨酸, PH=2.5

中和 Buffer: 1 M Tris-HCl, PH=8.5

III. 纯化步骤

下面的步骤是以 0.5ml 的柱体积为例，使用其他的柱体积，使用的 Buffer 体积可以按照比例扩大或者缩小。

样品准备

为了确保一定的离子强度和适当的PH 值使抗体能够更加有效的结合在 Protein G 亲和层析介质上，需要适当的使用 Binding/Wash Buffer 稀释血清或者腹水，比例至少 1:1。或者把样品在 Binding/Wash Buffer 中透析过夜。

层析柱填充

- 1) 充分摇匀，取 1ml 匀浆到一个预先装有 1 ml Binding/Wash Buffer 的层析柱中。
- 2) 让填料自然沉降到柱子底部。
- 3) 加入 5 ml Binding/Wash Buffer 到柱中，让 Buffer 缓慢的流出，流速大约为 1 ml/min。

过柱纯化

- 1) 加入样品，让样品缓慢的流出，流速大约为 0.2-0.5 ml/min。收集流出液，待后续可使用 SDS-PAGE 检测纯化效率。如有必要，可以重复或循环上样。
- 2) 使用大约 30 ml Binding/Wash Buffer 洗涤，流速大约为 2ml/min，或者使用紫外检测仪直到A280 值稳定为止。
- 3) 洗杂完毕后，加入 10-15 ml Elution Buffer，使用较低流速大约 1ml/min，收集洗脱液，加入中和 Buffer (1/10 洗脱液体积) 调节 PH 到 7.4。

填料再生

加入 10 ml 的 Elution Buffer 洗涤，或者使用 10ml 的 6M 盐酸胍 (PH 8.0) 洗涤，再加入 5 ml Binding/Wash Buffer 重新平衡填料。填料能够重复再生 10 次，配体脱落率低。

储存

Protein G 亲和层析介质需保存在含有 20%乙醇的 Binding/Wash Buffer 中，2-8°C保存。严禁冻结。

IV 故障排除

问题	可能原因	解决方案
层析柱流速太低 (<0.5 ml/min)。	Buffer或者样品中微小的空气泡沫或者颗粒堵塞了填料的孔径。	去除 Buffer 和样品中的气泡，重新悬浮填料。不能让层析柱过于干燥。
上样了很多样品，但是得到的目的抗体非常少或者没有。	样品中抗体的浓度太低。	尝试把抗原结合到亲和层析介质上再来纯化抗体（如使用 High-Affinity Iodoacetyl 亲和层析介质，Cat.No.L00403）。
抗体降解。	抗体对低PH 比较敏感。	洗脱完毕后使用中和 Buffer 中和洗脱液。
洗脱液中没有发现任何目的抗体	该 IgG 不和 Protein G 蛋白结合	使用其他的亲和介质纯化，如Protein A 亲和层析介质(L00210)，Protein L 亲和层析介质(L00239)。

V 相关产品

Cat. No.	Product Name
L00210	Protein A Resin
L00274	Protein G MagBeads
L00433	Monofinity A Resin
L00464	Protein A Resin FF
L00664	Protein G Resin FF
L00239	Protein L Resin
L00465	Ni Resin FF
L00666	High Affinity Ni-Charged Resin FF
L00353	Streptavidin Resin
L00206	Glutathione Resin
L00207	GST Fusion Protein Purification Kit
L00403	High-Affinity Iodoacetyl Resin

For research and manufacturing use. Direct human use, including taking orally and injection are forbidden.

生产商：南京金斯瑞生物科技有限公司 江苏省南京市江宁区科学园雍熙路 28 号

Manufacturer: Nanjing GenScript Biotech Co., Ltd. No. 28 Yongxi Road, Jiangning District, Nanjing, Jiangsu, China