



rProtein G填料预装柱 (1 mL, 5 mL, 20mL)

货号: QS01009A

rProtein G填料预装柱以便捷的形式实现了快速、可重现且简便的分离。该柱与诸如 中低压层析系统之类的液相色谱系统配合使用能达到最佳效果, 但也能够通过注射器或蠕动泵进行操作。

目录

一、产品描述.....	1
二、试剂准备.....	3
三、纯化操作.....	4
四、储存条件.....	5
五、更多信息.....	5
六、订购信息.....	5

一、产品描述

预装柱特点

预装柱柱体由生物相容性聚丙烯制成, 不会与生物分子发生相互作用。滤膜孔径经过优化, 可直接在柱上加载超声波处理的未澄清裂解液, 而不会造成背压问题或介质泄漏。

柱体配有入口的密封件和出口的快拆端。表1列出了预装柱的特性。

注意: 预装柱不能打开或重新填充。

注意: 确保适配器紧固以防止泄漏。

表 1 预装柱的特点。

柱子体积	1 mL, 5 mL, 20mL
柱子尺寸	7.8 × 25 mm (1 ml); 15.8× 27 mm (5 ml); 15.8 × 100 mm (20 ml)
最大流速	1 mL: 4 mL/min, 5 mL: 20 mL/min, 20 mL: 4 mL/min,
推荐流速	1 mL: 1 mL/min, 5 mL: 5 mL/min, 20 mL: 1 mL/min,
最大背压	3 bar (0.3 MPa)



填料特性

rProtein G 填料1毫升和5毫升层析柱分别填充了1毫升和5毫升的rProtein G Agarose 4FF填料。

rProtein G 填料专为从腹水、血清及细胞培养上清液中纯化和分离单克隆及多克隆IgG而设计。

蛋白G是G群链球菌的细胞表面蛋白，属于III型Fc受体，通过类似于金黄色葡萄球菌蛋白A的非免疫机制与IgG的Fc区域结合。然而，蛋白G与蛋白A的IgG结合特异性因IgG来源不同而存在差异。例如，相较于蛋白A，蛋白G对牛、羊、马等多克隆IgG的结合力更强。此外，与蛋白A不同，蛋白G还能结合多克隆大鼠IgG、人IgG3以及小鼠IgG1。

重组蛋白G（分子量为17 000）通过大肠杆菌表达，包含两个IgG结合区域。天然蛋白G的白蛋白结合区域已通过基因编辑删除，从而避免了与白蛋白的非特异性交叉反应。

基质偶联蛋白G对IgG的结合能力取决于免疫球蛋白的来源物种，总载量还受其他因素影响，如上样流速和样品浓度。以人IgG为例，其结合能力约为25毫克IgG/毫升填料。rProtein G 填料的特性总结见表2。

表2 rProtein G 填料的特点

基质	4%高度交联的琼脂糖球
颗粒大小 ¹	90 μm (d _{50v})
流速	推荐1ml预装柱用1ml/min；5mL预装柱用5ml/min。最大流速分别不要超过4ml/min，20 ml/min。
动态结合载量	>25 mg 人 IgG/ml 填料
pH工作范围	2 – 8
pH 稳定性 ²	短期：3 – 8 长期：2 – 8
储存	20%乙醇

¹ d_{50v}是累积体积分布中的中等颗粒大小。

² 短期pH：可以在不影响功能的情况下进行清洁或消毒的pH范围。长期pH：可以在不影响功能的情况下操作的pH范围。

表3. 蛋白A与蛋白G的相对结合强度对比



Species	Subclass	Protein A binding	Protein G binding
Human	IgA	variable	-
	IgD	-	-
	IgE	-	-
	IgG ₁	++++	++++
	IgG ₂	++++	++++
	IgG ₃	-	++++
	IgG ₄	++++	++++
	IgM*	variable	-
Avian egg yolk	IgY†	-	-
Cow		++	++++
Dog		++	+
Goat		-	++
Guinea pig	IgG ₁	++++	++
	IgG ₂	++++	++
Hamster		+	++
Horse		++	++++
Koala		-	+
Llama		-	+
Monkey (rhesus)		++++	++++
Mouse	IgG ₁	+	++++
	IgG _{2a}	++++	++++
	IgG _{2b}	+++	+++
	IgG ₃	++	+++
	IgM*	variable	-
Pig		+++	+++
Rabbit	no distinction	++++	+++
Rat	IgG ₁	-	+
	IgG _{2a}	-	++++
	IgG _{2b}	-	++
	IgG ₃	+	++
Sheep		+/-	++

说明:

- 蛋白 G 相较于蛋白 A, 对牛、羊、马等多克隆 IgG 的结合力显著增强, 且能有效结合大鼠 IgG 和人 IgG3 等蛋白 A 无法结合的亚型。
- 结合强度分类依据实验数据, 可能因具体实验条件略有差异。

二、试剂准备

蛋白 G 的 IgG 结合与洗脱条件



蛋白 G 可在较宽 pH 范围内 (如 pH 2.5–7.0) 结合 IgG, 因此可根据具体应用需求灵活选择缓冲液 pH 值。在 pH 7.0 时, 蛋白 G 与 IgG 的结合亲和力最强。洗脱时需将 pH 降至 2.5–3.0 (具体取决于样品类型)。

酸中和保护建议

为避免酸敏感性 IgG 失活, 建议在收集含 IgG 组分的离心管中预先加入 60–200 μl 的 1 M Tris-HCl 缓冲液 (pH 9.0)。此操作可使洗脱液最终 pH 恢复至近中性, 确保抗体活性。

缓冲液配制

- 水质与试剂: 使用高纯度水及化学试剂。
- 过滤建议: 缓冲液使用前需经 0.45 μm 滤膜过滤。
- 推荐缓冲液配方:
 - 结合缓冲液: 20 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0
 - 洗脱缓冲液: 0.1 M 甘氨酸-盐酸缓冲液, pH 2.7

样品前处理

1. 缓冲液适配: 需将样品调整为与结合缓冲液相同的组成。可通过以下方法实现:
 - 用结合缓冲液稀释样品
 - 使用脱盐柱进行缓冲液置换。
2. 样品澄清:
 - 确保样品完全溶解, 避免颗粒物堵塞层析柱。
 - 上样前需离心或经 0.45 μm 滤膜过滤以去除杂质。
 - 严禁直接上样浑浊溶液。

三、纯化操作

1. 收集管预处理

按每毫升待收集组分的体积, 预先向收集管中加入 60–200 μl 的 1 M Tris-HCl 缓冲液 (pH 9.0)。

2. 层析柱连接

- 用结合缓冲液充满注射器或泵管路。
- 移除层析柱密封塞, 通过适配器将柱体与注射器或泵管路以“液滴衔接”方式连接, 避免气泡进入柱内。

3. 出口端处理

移除层析柱出口端的折断式封头。



4. 柱平衡

以 1 ml/min (1 毫升柱) 或 5 ml/min (5 毫升柱) 的流速, 用 10 倍柱体积的结合缓冲液冲洗层析柱。

5. 上样

- 注射器法: 通过鲁尔接头适配器连接注射器, 手动推注样品。
- 泵法: 通过泵将样品加载至层析柱。

6. 冲洗未结合组分

用 5–10 倍柱体积的结合缓冲液冲洗, 直至流出液中无目标物 (如监测 A280 吸光度恢复基线)。

7. 洗脱目标 IgG

使用 2–5 倍柱体积的洗脱缓冲液进行洗脱。若结合力较强, 可适当增加洗脱体积。

8. 脱盐处理 (可选)

若需去除洗脱液中的盐分, 可使用脱盐柱进行缓冲液置换。

注意事项

- 层析柱重复使用: 仅建议用于同种单克隆抗体的纯化, 避免交叉污染。
- 流速限制: 1 毫升柱最大流速为 1–3 ml/min。
- 严禁操作: 不可上样浑浊溶液, 需确保样品经 0.45 μm 过滤或离心澄清。
(注: 具体参数请以实际实验条件优化为准。)

四、储存条件

用 2 倍柱体积的蒸馏水清洗, 然后用 2 倍柱体积的 20% 乙醇 (Q 柱和 DEAE 柱) 或 20% 乙醇 (含有 0.2 M 乙酸钠, S 柱) 清洗。储存温度为 4°C 至 30°C。不要冷冻。确保柱子密封良好以避免干燥。

五、更多信息

更多有关优化、故障排除、清洗等其他主题的信息可以在 [公众号: 千株松生物](#) 上查找。

六、订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
Capto Q 预装柱	1 ml, 5ml, 20ml	QS01048A
SP 预装柱		QS01047A
Ni NTA Agarose Beads 6FF 预装柱		QS01002A
Ni TED Agarose Beads 6FF 预装柱		QS01003A
Glutathione Agarose Beads 4FF 预装柱		QS01012A



rProtein A Agarose 4FF预装柱		QS01008A
rProtein G Agarose 4FF预装柱		QS01009A