



rProtein G Agarose Beads 4FF

货号: QS01009

一、产品概述

rProtein G Agarose Beads 4FF 是一款专为**广谱 IgG 抗体及 Fc - 融合蛋白**纯化设计的高性能亲和层析介质，特别适用于 rProtein A 结合能力弱或不结合的抗体亚型。本产品以高度交联的 4% 琼脂糖微球为基质，通过多位点定向偶联技术共价结合**大肠杆菌表达的重组 Protein G 配体**，去除了天然 Protein G 中与白蛋白及细胞表面结合的非必需结构域，仅保留高亲和力 IgG 结合区域，显著降低非特异性吸附，确保纯化产物纯度 $\geq 95\%$ 。

与 rProtein A 相比，本产品具有**更广泛的抗体结合谱**，可高效结合人 IgG3、小鼠 IgG1、大鼠 IgG2a 等 rProtein A 难以捕获的亚型，同时对牛、羊、马等多克隆抗体具有更强的亲和力，是多物种、多亚型抗体纯化的首选介质。产品适配重力柱、中压层析系统（如 ÄKTA）及自动化纯化平台，满足实验室基础研究、中试放大及工业化生产的全流程需求。

二、核心产品特性

- **超广结合谱**：覆盖所有人类 IgG 亚类（IgG1-IgG4），高效结合小鼠 IgG1-IgG3、大鼠 IgG1-IgG2a、兔、山羊、绵羊、牛、马等多种哺乳动物 IgG，解决 rProtein A 无法纯化特定亚型的痛点
- **高结合载量**：对人 IgG 的动态结合载量约 20 mg/ml 基质，可高效处理大体积样品，减少介质用量
- **极低非特异性吸附**：重组配体去除了白蛋白结合域，血清白蛋白吸附率 $< 0.5\%$ ，无需额外优化洗杂条件即可获得高纯度产物
- **优良的机械强度**：高度交联 4% 琼脂糖基质，粒径均匀（45-165 μm ），可耐受 0.3 MPa（3 bar）操作压力，最高流速可达 500 cm/h，显著缩短纯化周期
- **化学稳定性优异**：在 pH 3.0-10.0 范围内长期稳定，短期可耐受 pH 2.0-11.0；兼容 6 M 盐酸胍、8 M 尿素及 0.1 M 氢氧化钠等常用清洗试剂
- **操作便捷**：预装柱与散装介质可选，纯化流程标准化，单批次纯化周期约 30 分钟；介质可重复使用 ≥ 10 次，结合能力无明显下降
- **安全可靠**：无动物源性成分，降低交叉污染风险；2-8 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存即可，无需冷冻，保质期长达 18 个月



三、详细技术参数

参数名称	具体规格
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	大肠杆菌表达的重组 Protein G (去除白蛋白结合域)
粒径范围	45-165 μm (平均粒径 90 μm)
动态结合载量	20 mg 人 IgG/ml 基质 (流速 150 cm/h)
最大操作压力	$\leq 0.3 \text{ MPa}$ (3 bar)
推荐工作流速	重力流: 100-300 cm/h; 中压层析: $\leq 500 \text{ cm/h}$
工作 pH 范围	长期: 3.0-9.0; 短期: 2.0-10.0
化学稳定性	耐受所有常用水性缓冲液、6 M 盐酸胍、8 M 尿素、0.1 M 氢氧化钠
储存缓冲液	含 20% (v/v) 乙醇的 1 $\times$ PBS 缓冲液 (pH 7.4)
储存温度	2-8 $^{\circ}\text{C}$ (严禁冷冻)
主要用途	单克隆抗体、多克隆抗体、Fc - 融合蛋白的分离纯化; 免疫沉淀 (IP)、免疫共沉淀 (Co-IP) 实验

四、溶液配置

所有缓冲液均需用超纯水配制, 并经 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤脱气, 避免堵塞介质或引入气泡。

4.1 结合 / 洗杂缓冲液 (Binding/Wash Buffer)

推荐配方: 0.02 M 磷酸钠缓冲液 + 0.15 M NaCl, pH 7.0-7.4

替代配方: 1 $\times$ PBS 缓冲液 (pH 7.4)

用途: 平衡介质, 维持目的蛋白与配体的最佳结合环境, 去除非特异性吸附的杂蛋白。

4.2 洗脱缓冲液 (Elution Buffer)

标准配方: 0.1 M 甘氨酸 - HCl 缓冲液, pH 2.7-3.0

备选配方: 0.1 M 柠檬酸缓冲液, pH 2.5-3.0

注意: 对于与 Protein G 结合特别紧密的抗体亚型 (如小鼠 IgG1), 可适当降低洗脱液 pH 至 2.5, 但需立即中和, 避免蛋白变性。

4.3 中和缓冲液 (Neutralizing Buffer)

配方: 1.0 M Tris-HCl 缓冲液, pH 8.5-9.0

用量: 洗脱组分体积的 1/10, 立即加入并轻柔混匀, 将 pH 调节至 7.0-7.4。

4.4 在位清洗缓冲液 (CIP Buffer)

- 去除沉淀 / 变性蛋白: 6 M 盐酸胍溶液
- 去除疏水性杂质: 70% 乙醇溶液或 1% Triton X-100 溶液



- 深度消毒清洗：0.1 M 氢氧化钠溶液（接触时间 $\leq$ 30 分钟）

五、样品制备

1. **缓冲液置换**：将样品通过透析、超滤或 G25 凝胶过滤置换至结合缓冲液体系，确保样品 pH 在 6.0-7.4 之间。若样品为细胞培养上清、血清或腹水，可直接用结合缓冲液稀释 2-5 倍。
2. **澄清处理**：样品在 4℃ 下以 12000 rpm 离心 10 分钟，去除细胞碎片和沉淀；随后用 0.45 μ m 滤膜过滤，对于高粘度样品可先用 0.8 μ m 滤膜预过滤。
3. **浓度调节**：若样品中抗体浓度 > 2 mg/ml，建议用结合缓冲液稀释至 1-2 mg/ml，避免浓度过高导致柱效下降和结合不充分。

六、标准纯化操作流程（重力柱法）

以下操作以 1 ml 柱体积（CV）为例，可根据实际柱体积按比例放大。

6.1 柱平衡

1. 取出预装柱或装填好的重力柱，打开下出口，流干储存缓冲液。
2. 加入 5-10 个柱体积的结合缓冲液，自然流干，重复 2-3 次，直至流出液的 pH 和电导率与结合缓冲液一致。

6.2 上样结合

1. 将预处理好的样品缓慢加入柱中，控制流速使样品保留时间 $\geq$ 3 分钟，确保目的蛋白与介质充分结合。
2. 收集流穿液，可通过 SDS-PAGE 或紫外分光光度计（OD280 nm）检测结合效率，若流穿液中目的蛋白含量较高，可将流穿液重新上样 1 次。

6.3 洗杂

1. 加入 10-15 个柱体积的结合缓冲液，缓慢流干，去除非特异性吸附的杂蛋白。
2. 持续收集洗杂液，直至 OD280 nm 值降至基线水平（ < 0.05 ）。

6.4 洗脱

1. 加入 5-8 个柱体积的洗脱缓冲液，分段收集洗脱组分，每 0.5-1 个柱体积收集 1 管。
2. 立即向每管洗脱液中加入 1/10 体积的中和缓冲液，轻柔混匀，防止目的蛋白在低 pH 环境下变性失活。
3. 检测各管 OD280 nm 值，合并有吸收峰的组分。

6.5 介质再生与保存

1. **再生**：洗脱完成后，加入 5 个柱体积的结合缓冲液冲洗介质，再用 3 个柱体积的去离子水平衡，即可进行下一次纯化。
2. **保存**：若介质长期不用，加入 5 个柱体积的 20% 乙醇溶液，密封柱管，置于 2-8℃ 冷藏保存；定期检查保护液，若出现浑浊、沉淀或异味，需更换保护液或丢弃介质。



七、在位清洗 (CIP) 操作指南

当介质出现流速变慢、结合载量下降 $\geq 20\%$ 或杂蛋白吸附增多时, 需进行在位清洗, 恢复介质性能。

- 常规清洗:** 用 3 个柱体积的 0.1 M 氢氧化钠溶液缓慢冲洗, 停留 15-30 分钟, 然后用 10 个柱体积的去离子水冲洗至 pH 中性, 再用 5 个柱体积的结合缓冲液平衡。
- 深度清洗:** 若常规清洗效果不佳, 可先用 2 个柱体积的 6 M 盐酸胍溶液冲洗, 停留 5 分钟, 用去离子水冲洗干净后, 再进行常规氢氧化钠清洗。
- 注意:** 0.1 M 氢氧化钠溶液与介质的接触时间每次不宜超过 30 分钟, 避免配基脱落影响结合载量。

八、常见问题及解决方案

常见问题	可能原因	解决方案
流速明显变慢	- 筛板被样品颗粒堵塞 - 介质被变性蛋白或沉淀堵塞 - 柱床压实过度	- 用去离子水反冲筛板或更换筛板 - 按第 7 部分进行深度在位清洗 - 重新装填柱床, 避免过度压实
流穿液中目的蛋白含量高	- 上样量过载 - 上样流速过快, 结合不充分 - 样品 pH 或盐浓度不合适 - 抗体亚型与 Protein G 亲和力低	- 减少上样量或增加介质体积 - 降低上样流速, 延长保留时间至 5 分钟以上 - 将样品 pH 调节至 6.0-7.0, 盐浓度调整为 0.15 M - 尝试降低洗脱液 pH 至 2.5, 或改用 rProtein A/G 介质
洗脱组分中无目的蛋白	- 洗脱条件过于温和 - 目的蛋白在低 pH 下变性沉淀 - 样品中目的蛋白含量过低 - 介质结合载量严重下降	- 降低洗脱液 pH 至 2.5-2.7, 增加洗脱体积 - 提前准备中和液, 洗脱后立即中和 - 浓缩样品后再上样 - 进行在位清洗, 若无效则更换新介质
纯化产物纯度低	- 样品预处理不充分, 杂蛋白过多 - 洗杂不彻底 - 非特异性吸附增加 - 柱床装填不均, 出现沟流	- 重新离心过滤样品, 必要时进行硫酸铵沉淀预处理 - 增加洗杂体积至 20 个柱体积 - 在洗杂缓冲液中加入 0.5 M NaCl - 重新装填柱床, 确保柱床均匀无气泡



常见问题	可能原因	解决方案
目的蛋白回收率低	1. 洗脱不彻底 2. 目的蛋白在低 pH 下失活 3. 介质结合载量下降 4. 洗杂过度	1. 降低洗脱液 pH，增加洗脱体积 2. 缩短洗脱液与蛋白的接触时间，立即中和 3. 进行在位清洗或更换新介质 4. 减少洗杂体积，实时监测洗杂液 OD280 nm 值

九、重要注意事项

1. 本产品仅用于科研及工业生产目的，不得用于临床诊断、治疗或人体实验。
2. 介质从 2-8℃取出后，需在室温下平衡 15-30 分钟，轻柔摇匀后再使用，避免温度骤变产生气泡或破坏琼脂糖基质。
3. 操作过程中严禁剧烈震荡介质，避免微球破裂；所有溶液需沿柱壁缓慢加入，防止冲散柱床。
4. 洗脱缓冲液为低 pH 溶液，具有腐蚀性，操作时请佩戴手套、护目镜等防护用品，避免接触皮肤和黏膜。
5. 介质不可冷冻，冷冻会导致琼脂糖基质破裂，永久丧失结合能力；储存过程中需密封，防止保护液挥发和微生物污染。
6. 不同种属、不同亚型的 IgG 与 Protein G 的结合能力存在差异，使用前建议参考相关文献优化实验条件。
7. 若纯化的抗体用于后续细胞实验或动物实验，需将洗脱后的抗体通过透析或超滤去除缓冲液中的甘氨酸等小分子物质。

十、订购信息及相关产品

产品名称	货号	主要用途
rProtein G Agarose Beads 4FF	QS01009	广谱 IgG 及 Fc - 融合蛋白纯化
rProtein A Agarose Beads 4FF	QS01008	人 IgG1/2/4、兔 IgG 等高亲和力抗体纯化
耐碱 rProtein A Agarose Beads 4FF	QS01007	工业生产级抗体纯化，可耐受 0.5 M NaOH
rProtein A/G Agarose Beads 4FF	QS01010	超广谱抗体纯化，结合 Protein A 和 G 的优势
抗体纯化缓冲液套装	QS01901	配套使用，无需自行配制缓冲液

十一、售后服务



若您在使用过程中遇到任何技术问题，或需要定制特殊规格的产品，请通过以下方式联系我们，我们将在 24 小时内为您提供专业的技术支持和解决方案。

- 技术支持热线：17302508337（微信同号）
- 公司官网：www.qianzhusong.com

免责声明：本产品手册提供的操作方法为标准流程，实际实验中可根据样品特性和实验需求进行适当优化。因操作不当、样品质量问题或不可抗力因素导致的实验失败，本公司不承担相关责任。