
UniMab ProtG

Protein G 亲和层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0314

版本号：A0



UniMab ProtG

亲和层析介质

UniMab ProtG 是通过环氧活化的方式将 Protein G 固定到聚甲基丙烯酸酯 (PMMA) 基架上而制得的一种亲和介质。Protein G 有更广泛的结合谱, 同时不仅具有与抗体的 Fc 片段有着强有力的结合, 也和抗体 Fab 片段有着弱的相互作用, 所以 UniMab ProtG 常用于分离纯化来自细胞培养物中的抗体或者抗体片段, 以及从各种种属血清中的其他抗体。

表 1. 纳微科技 UniMab ProtG Protein G 亲和层析介质技术参数

产品型号	UniMab ProtG
分离原理	Protein G 亲和捕获
基质	聚甲基丙烯酸酯 (PMMA)
粒径	50 μm
配基键合方式	环氧键合
动态结合载量	45-55 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (人 IgG, 4 min 驻留时间)
最大耐压	0.8 MPa
CIP 在位清洗	6 M 盐酸胍
推荐流速	100-500 cm/h
pH 稳定性	2-10
化学稳定性	所有常用缓冲液, 20 mM 磷酸钠、1%SDS、6 M 盐酸胍、70%乙醇、6 M 尿素等常用有机溶剂; 避免长期接触强酸强碱。
使用温度	2-40 $^{\circ}\text{C}$

表 2. Protein G 对不同种属抗体的相对亲和能力

Species	Ig Class	Protein G
Mouse	Total IgG	++++
	IgG1	++++
	IgG2a	++++
	IgG2b	+++
	IgG3	+++
Human	Total IgG	++++
	IgG1	++++
	IgG2	++++
	IgG3	++++
	IgG4	++++
	Fab	++
Rat	Total IgG	+
	IgG1	+
	IgG2a	++++
	IgG2b	++
	IgG2c	++
Rabbit	Total IgG	+++
Donkey	Total IgG	++++
Sheep	Total IgG	++
	IgG1	++
	IgG2	+++
Cow	Total IgG	++++
	IgG1	+++
	IgG2	+++
Chicken	Total IgG	+

操作指南

匀浆浓度测定

UniMab ProtG 亲和层析介质保存在 20 %乙醇溶液装瓶出售, 匀浆浓度 (Cs) 大约 65% (v/v)。匀浆液浓度是指层析介质恒定沉降体积与匀浆液的总体积的比值。如需准确测定 Cs, 可以将原容器内介质摇匀, 然后转移 10 mL 匀浆到量筒里静置过夜, 读出沉降体积 Vr, 计算匀浆浓度:

$$\text{Eq. 1 } C_s (\%) = 100 \times (V_r/10) = 10 V_r$$

为了获取最佳的装柱效果, 推荐使用 0.5 M NaCl 溶液配制 50~70 %的介质匀浆液。

介质前处理

1) 计算所装色谱柱的柱体积 (Vc) :

$$\text{Eq. 2 } V_c = h \times \pi r^2$$

h: 色谱层析柱高度; r: 色谱层析柱半径

2) 计算所需匀浆体积 (Vs) :

一般情况下, 层析介质在压力作用下都会被压紧导致体积收缩, 为了获得紧密的柱床, 推荐填料的体积过量一些, 压缩比 (Compression factor, CF) 一般为 1.05-1.1。

$$\text{Eq. 3 } V_s = 100 \times (V_c \times CF)/C_s$$

3) 制备装柱介质匀浆:

将原容器中层析介质摇匀, 量取所需原液体积 Vs 至适当容器中, 静置让介质颗粒自然沉降后, 倾斜倒去上清液; 用 5 倍柱体积以上的装柱溶液, 如 0.5 M NaCl, 清洗介质以去除原保存液, 再用装柱溶液调整匀浆浓度到 50-70% (v/v)。

层析柱装填方法: (以 NmXK 16/20 层析空柱为例)

- 1) 使用装柱溶液快速冲洗柱子末端的接头以除去气泡, 然后关闭柱子出口, 并在柱子底部保留 1-2 cm 装柱液。
- 2) 用装柱溶液排除上柱头管路中的气泡。
- 3) 重悬介质, 用玻璃棒紧靠柱内壁引流, 将胶悬液连续倒入层析柱中, 用装柱溶液清洗柱壁并填满柱管, 然后安装上柱头。注意操作过程中避免混入气泡。

- 4) 打开柱子底部的出口, 开动层析系统泵, 在建议压力范围内用恒流或恒压方法进行压柱。待柱床稳定后, 在胶液界面作标记。
- 5) 关闭泵和柱子出口, 旋松上柱头入口管线, 用上柱头推压柱床至标记线下 2-3 mm, 然后旋紧上柱头入口管线。

柱效评价

装好的层析柱先使用 2 CV 0.5 M NaCl 溶液平衡, 再用 2.0 M NaCl 以 100 cm/h 流速进行柱效测试; 亦可使用去离子水平衡层析柱并用丙酮溶液做测试。具体测试参数详见表 3:

表 3. UniMab ProtG 层析色谱柱的柱效测试条件。

样品	5% (v/v)丙酮的水溶液或 2 M NaCl
上样量	1 ~ 5 %柱体积
流动相	去离子水或 0.5 M NaCl
线性流速	50 ~ 200 cm/h
检测	5 %丙酮上样: UV @ 280 nm 2 M NaCl 上样: 电导检测仪
合格标准	As: 0.8-1.5; Plates (N/m) : >2500

使用方法

1) 冲洗并平衡:

使用之前依次用洗脱液 (如 100 mM 甘氨酸, pH 3.0) 和平衡液 (如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4) 冲洗并平衡层析柱;

2) 进样:

样品的上样量不超过介质 DBC_{10%}的 0.8 倍;

3) 清洗:

5 CV 平衡液 (如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4);

4) 洗脱:

5 CV 柠檬酸、醋酸或甘氨酸, pH 3;

5) 清洗:

5 CV 1 M 醋酸;

6) 再生 (Cleaning-in-place, CIP):

3 - 5 CV 6 M 盐酸胍 溶液清洗, 如有需要可以适当延长浸泡时间;

7) 再平衡:

5 CV 平衡液 (如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4) 清洗至基线;

8) 保存:

使用结束后,先用纯水替换层析柱中缓冲盐,然后用 20%乙醇保存。

长期储存

介质密封保存在 20 %乙醇,建议保存温度为 2~8 °C。注意防止乙醇挥发以及微生物生长,建议 3 个月更换一次 20 %乙醇。

注意:使用过程中,所用样品及流动相必须用孔径为 0.45 μm 滤膜过滤。

故障排除

如果您在使用 UniMab ProtG 产品遇到任何问题,请参考下表进行解决或联系我们。

现象	原因分析	建议措施
柱压升高	流速过高	降低流速
	仪器的在线滤器堵塞	去除杂质并清洗,或者替换,在使用前对样品和缓冲液进行过滤
	柱床被压缩	重新填充柱子
	层析柱使用过久	更换层析柱或更换层析介质
	泵和收集器之间的阀门未打开	打开出口
出现柱上沉淀	疏水性蛋白、脂蛋白或者脂类累积	用非离子型表面活性剂冲洗(如 0.1% Tergitol 15-S-9 或 Triton X-100 reduced/还原态),或者 70% 乙醇,或者 1 M 盐酸胍;然后使用至少 5 倍柱体积经过消毒过滤的结合缓冲液(pH 7-8)冲洗
	蛋白质变性沉淀	使用 2 倍柱体积的 1.0 M NaCl,或者 0.1 M H ₃ PO ₄ ,或者 6 M 盐酸胍冲洗柱子,至少冲洗 10 分钟以上;然后使用至少 5 倍柱体积经过消毒过滤的结合缓冲液(pH 7-8)冲洗

订货信息

产品型号	包装	货号
UniMab ProtG	30 mL	17015-050100-2030
	50 mL	17015-050100-2050
	100 mL	17015-050100-2100
	300 mL	17015-050100-2300
	500 mL	17015-050100-2500
	1 L	17015-050100-1001
	5 L	17015-050100-1005
	10 L	17015-050100-1010
	50 L	17015-050100-1050
	100 L	17015-050100-1100

注：可以提供 7.7 mm × 22 mm 、 16 mm × 25 mm 、 7.7 mm × 100 mm 的层析预装柱。更多规格型号或定制需求，请联系我们。

苏州纳微科技股份有限公司

全国咨询热线：400-828-1622

邮箱：info@nanomicrotech.com

(本公司产品仅限科研或工业使用)

中文网站：www.nanomicrotech.com

英文网站：en.nanomicrotech.com

2022-苏州纳微科技股份有限公司版权所有

总部地址：苏州工业园区百川街2号 215123

2022年12月第一版

