

TECHNOTE 204

Protein A、G 与抗体的结合



Enriching Biotechnology

Telephone: +86 021 55809378

E-mail address: marketing@bio-enriching.com

一. Protein A 琼脂糖凝胶亲和层析与抗体的结合

目前, 约 70-80% 的抗体纯化使用 Protein A、Protein G 亲和层析。蛋白 A (Protein A) 来源于金黄色葡萄球菌的一个株系, 它含有 5 个可以和抗体 IgG 分子的 Fc 段特异性结合的结构域。蛋白 A 作为亲和配基被偶联到琼脂糖基质上, 可以特异性的和样品中的抗体分子结合, 而使其他杂蛋白流穿, 具有极高的选择性, 一步亲和层析就可达到超过 95% 的纯度。1 个蛋白 A 分子至少可以结合 2 个 IgG。蛋白 A 也可以结合另一些免疫球蛋白, 如用于某些种属的 IgA、IgM 的纯化。

天然 (Native Protein A) 和重组的蛋白 A (rProtein A) 对于 IgG 的 Fc 段有着相似的特异结合。重组的蛋白 A 经改造后含有一个 C 末端半胱氨酸, 可以单一位点偶联于琼脂糖上, 降低了空间位阻, 增加了与 IgG 的结合能力。蛋白 A 与 IgG 的结合强度很大程度上依赖于该抗体的种属和亚型, 而其动态结合能力则决定于结合强度 (解离常数) 及传质阻力等多种因素 (例如上样时样品在柱内的停留时间)。

二. Protein G 琼脂糖凝胶亲和层析与抗体的结合

蛋白 G 是一种源自链球菌 G 族的细胞表面蛋白, 为三型 Fc 受体。其通过类似于蛋白 A 的非免疫机制与抗体的 Fc 段结合。像蛋白 A 一样, 蛋白 G 可以与 IgG 的 Fc 区域特异性结合, 不同的是, Protein G 琼脂糖可以广泛、更强地结合更多类型的 IgG, 多克隆 IgG 及人 IgG, 同时血清蛋白结合水平更低, 纯度更高, 配基脱落也相对更低。此外, 蛋白 G 还可以和某些抗体的 Fab 和 F(ab')₂ 段结合。

Protein G 是从 G 类 Streptococci 细菌中分离出来的胞壁蛋白, 与多数哺乳动物的 IgG Fc 段结合 (包括: 人、山羊、绵羊、兔、豚鼠、马、猪、猴、小鼠等), 分子量: 25kDa。Protein G 可用于纯化不能与 Protein A 很好结合的哺乳动物单抗和多抗 IgG 的纯化。相对于 Protein A, Protein G 对于大多数哺乳动物的 IgG 有着更高的亲和力, 尤其是对于 IgG 的亚基, 如人 IgG3, 小鼠 IgG1 和鼠 IgG2a。与 Protein A 不同, Protein G 不与狗 IgG 结合、不结合人 IgM, IgD, 或 IgA。

重组蛋白 G (Recomb Protein G) 已经除去了与白蛋白及细胞表面结合位点, 减少了交叉反应和非特异性结合。因此, 它比天然蛋白 G 和蛋白 A 有更大的亲和力。可以代替二

抗，广泛应用于免疫化学等领域。在亲和力、稳定性等方面好。

重组蛋白 G 可以偶联到环氧活化的琼脂糖凝胶上，成为用于抗体分离纯化的亲和层析介质，可从腹水或培养液中直接分离纯化抗体。如果采用了环氧活化的方法，与溴化氰活化方法相比，可获得长短更适合的结合臂，使抗体纯化获得更好的效果。并且这种方法活化的琼脂糖凝胶没有离子交换的作用，因而其死吸附少。

Enriching Beads®中 Protein A 琼脂糖磁珠，Protein G 琼脂糖磁珠，Protein A/G 琼脂糖磁珠专为抗体纯化而设计，相比传统层析亲和柱具有磁性分离快，操作简单且可以轻松实现高通量和大规模样品的平行处理的优势，磁性亲和技术有望是新一代的亲和工具。

附：Protein A 和 Protein G 的适用范围

表一：Protein A、G 亲和能力

物种	亚类	protein A 结合	protein G 结合
人	IgA	可变	-
	IgD	-	-
	IgD	-	-
	IgG1	++++	++++
	IgG2	++++	++++
	IgG3	-	++++
	IgG4	++++	++++
	IgM	可变	-
鸡蛋黄	IgY	-	-
牛		++	++++
狗		++	+
山羊		-	++
豚鼠	IgG1	+++	++
	IgG2	+++	++
仓鼠		+	++
马		++	++++
考拉		-	+
骆驼		-	+
猴(恒河)		++++	++++
小鼠	IgG1	+	++++
	IgG2a	++++	++++
	IgG2b	+++	+++
	IgG3	++	+++
	IgM	可变	-
猪		+++	+++
兔		++++	+++
大鼠	IgG1	-	+
	IgG2a	-	++++
	IgG2b	-	++
	IgG3	-	++
绵羊		+/-	++