

# 如何用 Bio-Rad NGC™ 系统进行蛋白纯化的工艺开发

Tech  
Note

Paul Ng, Kiran Kaur, Jonathan Kohn, Anna Quinlan, and Jeff Habel  
Bio-Rad Laboratories, Inc., 2000 Alfred Nobel Drive, Hercules, CA, USA

Protein Purification

Bulletin 6530

## 摘要

在生物化学及结构生物研究中, 由于对目标蛋白的纯度具有极高的要求, 因而科研人员常采用的方法是重组表达含有亲和和标签的目标蛋白并对其进行纯化, 但是这种方法并非万能。因此, 我们希望通过本文介绍一种普遍适用的非标签蛋白的工艺开发流程, 并提出一个新的工艺方法的评价指标: 纯度差异 (Purity Quotient Difference, PQD)。

## 前言

高纯度的蛋白样品是许多基础应用的前提, 比如蛋白结构测定、抗体药物生化特性确认等。当前常用的蛋白纯化方式是采用亲和和标签纯化, 如组氨酸 (6x His) 标签或谷胱甘肽S转移酶 (GST) 标签。这些标签能够提高蛋白纯化工艺的通量和效率, 而且相关的实验步骤也随手可得。

但是亲和和标签纯化并非一种万能的方法, 某些蛋白添加亲和和标签后可能出现不稳定或失活现象, 对于一些需要翻译后修饰的蛋白, 他们往往不能采用重组表达的方法。对于这些蛋白而言, 他们无法像标签蛋白那样采用专一的层析柱或介质, 利用特定的条件进行高效的纯化, 因此纯化工艺的优化就变得费时又费力, 此时研究人员往往对于低纯度的样品就已满足, 不再竭尽全力探索不同的纯化工艺。

无论是纯化标签蛋白还是非标签蛋白, 一个理想的纯化工艺流程包括: 每一步纯化过程中的柱、pH 以及洗脱梯度 (%B) 的优化 (图1)。本文中, 我们展示了如何用配备了柱切换阀、样品泵、缓冲液在线配制阀以及含有 Scouting 功能的 ChromLab 软件的 Bio-Rad NGC 中高压系统对工艺过程中的柱、pH 以及 %B 等条件进行优化。纯化的对象为无标签的生色蛋白 Prancer Purple, 我们希望用这样一个例子阐明: 即使层析柱或介质的化学特性或是 pH 发生很小的改变, 也会对蛋白质的结合产生巨大的影响, 而洗脱缓冲液的 pH 或混合梯度的改变则会对洗脱样品的纯度产生极大的改变。

我们的研究强调了工艺开发过程中层析介质、pH 和缓冲液筛选的重要性, 更揭示了 Bio-Rad NGC 系统与 ChromLab 软件是如何将这一复杂的过程简单化, 使每一名研究人员都能获得高纯度的非标签蛋白。

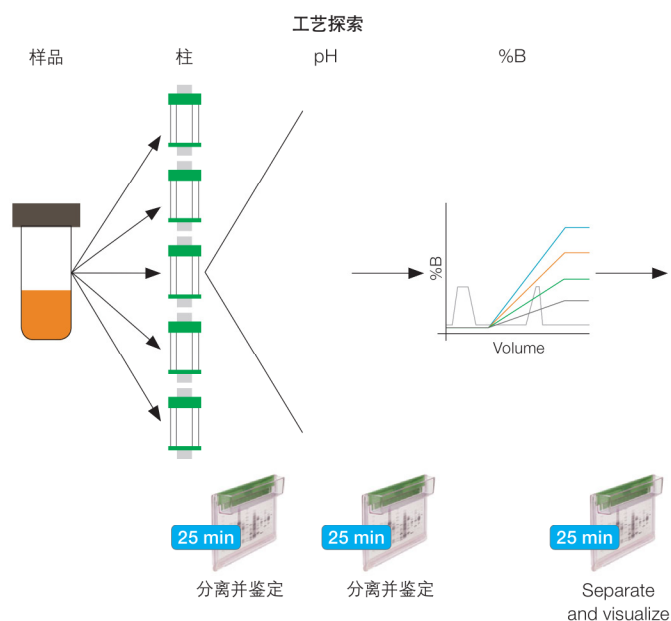


图1. 蛋白纯化工艺筛选流程

BIO-RAD

## 材料与方法

### 蛋白表达

利用标准的热激方法将含有卡那霉素抗性的 Prancer Purple 表达载体 (DNA 2.0) 转入 HB101 *E.coli* 感受态细胞。经过常规的平板培养后, 挑取一个单克隆菌落至 10 ml 含卡那霉素的 LB 培养基 (LB/kan) 中, 在 37 °C 条件下过夜培养。细菌菌体用 Eppendorf 5804 离心机 (转子 A-4-44) 在 4,000 rpm 条件下离心 10 min 后收集沉淀, 用 10 ml 新鲜配制的 LB/kan 培养基重悬菌体沉淀后接种至 1 L LB/kan 培养基中。37°C、200 rpm 条件下, 置于摇床内培养。当 OD<sub>600</sub> 达到 0.4 时, 加入 IPTG 至终浓度 0.1 M, 诱导 Prancer Purple 蛋白的表达。过夜培养后, 菌体通过 10,000 rpm 高速离心收集 (Sorvall SA-600 转子, 10,000 rpm, 10 min)。无论是液体亦或是固体培养基, 其中所含的卡那霉素的终浓度均为 50 µg/ml。

### 细胞裂解

取 20 ml B-Per 裂解缓冲液 (Pierce Cat#78243) 加入 20 µl 1 mg/ml DNase I 和 200 µl 1 M MgCl<sub>2</sub> 后, 重悬细菌沉淀。裂解液于 10,000 rpm 条件下离心 10 min 后取上清液。

### 柱筛选

所有层析过程均使用 Bio-Rad NGC Discover™ 系统完成。分别取 3 支 1 ml 体积的阴离子交换预装柱, Foresight™ Nuvia™ Q, Bio-Scale™ Mini UNOsphere™ Q 和 Bio-Scale™ Mini Macro-Prep® High Q 以及 1 支 5 ml Bio-Scale™ Mini CHT™ II 型预装柱置于 NGC 系统柱切换阀的不同接口位置。根据 ChromLab 软件的 Scout 功能要求输入相应参数生成对应的离子交换方法。利用缓冲液配制阀实现缓冲液 A (50 mM Tris-HCl pH 7.5) 和缓冲液 B (50 mM Tris-HCl pH 7.5 含 1 M NaCl) 的自动配制, 其中 Q1 进口对应 0.2 M HCl, Q2 进口对应 0.2 M Tris, Q3 进口对应去离子水, Q4 进口对应 4 M NaCl。同样用 Scout 功能生成针对四种不同的层析柱的相应方法。

首先用 3 倍体积的去离子水稀释样品裂解上清液, 然后用样品泵将 1 ml 稀释液直接注入层析柱。再用 5 倍柱体积的 Buffer A 平衡柱, 接着用 20 倍柱体积的线性梯度进行洗脱, 梯度洗脱的起始浓度为 0%, 终浓度为 50%。随后再用 10 倍柱体积 50%B 的缓冲液进行柱冲洗。最后用 5 倍柱体积的 100% B 缓冲液进行柱再生, 并用 10 倍柱体积的 Buffer A 进行柱预平衡。所有纯化步骤均以 1 ml/min 的流速进行操作。每组运行结果对应的收集组分均用 SDS-PAGE 进行分析。

### pH 条件筛选

选定 Foresight Nuvia Q 预装柱作为第一步纯化介质后, 利用 ChromLab 软件的 Scout 功能生成不同 pH 条件下的实验方案。首先对样品结合时的 pH 条件进行筛选, 分别测试 pH 7.0, 7.5, 8.0 和 8.5 条件下, 1 ml 稀释液与 Foresight Nuvia Q 柱的结合效果。每次运行后洗脱的样品大约 0.2 ml, 采用 SDS-PAGE 进行分析。

### %B 浓度筛选

确定缓冲体系的 pH 为 7.5 后, 再次利用 Scout 功能生成不同 %B 条件下的实验方案。采用 10 倍柱体积长度的线性梯度, 终浓度分别设置为 20%、30%、40% 和 50%B。用样品泵将 1 ml 稀释液直接注入 Nuvia Q 柱, 然后运行设定方法。每次运行后洗脱的样品大约 0.2 ml, 采用 SDS-PAGE 进行分析。

### CHT 羟基磷灰石层析

将收集的 Nuvia Q 柱洗脱组分用两倍的去离子水稀释。实验缓冲

体系更换为磷酸盐体系, 用缓冲液在线配制阀实现缓冲液 A 和缓冲液 B 的自动配制, 其中 Q1 进口对应 0.2M 磷酸一氢钠, Q2 进口对应 0.2 M 磷酸二氢钠, Q3 进口对应去离子水, Q4 进口对应 4 M NaCl。首先用 50 mM 磷酸盐缓冲液 pH7.4, 预先平衡 10 ml 的 CHT II 预装柱, 然后采用 20 倍柱体积的线性梯度 (0-50%B) 进行洗脱, 组分收集体积为 1 ml。

### ENrich™ SEC 70 层析

用 Millipore 5K 浓缩管将收集的 CHT 洗脱组分浓缩至 200 µl (约 20 倍浓缩)。然后用 50 mM 磷酸盐缓冲液 (含 150 mM NaCl) 对 ENrich SEC 70 柱进行预平衡, 将样品注入静态上样环中通过静态上样环实现进样, 采用等度洗脱, 整个运行大约需 1.25 个柱体积的时长。组分收集体积为 1 ml, 采用 SDS-PAGE 对样品进行分析。

### SDS-PAGE 分析

所有层析实验运行结果均使用 SDS-PAGE 方法进行样品分析, 采用 Any kD™ Criterion™ 免染胶进行实验, 实验运行时间为 30 min、固定电流为 300 mA, 电泳结束后即刻用 ChemiDoc™ 系统成像。

### 纯度计算

每一次运行获得的实验结果均用 ChromLab 软件内置的分析功能进行数据处理 (图 2C)。首先对每组结果中的 280 nm 和 525 nm 曲线分别进行积分, 然后将数据表中的峰面积与峰相对面积导入 Excel 中进行处理。每个波长的纯度 (PQ) 计算统一采用相对面积 (%B) / 收集体积 (ml)。而纯度差异 (PQD<sub>pp</sub>) 则根据  $PQ_{525} - PQ_{280}$  计算获得, 最后将这些结果进行作直方图。直方图中主要用于分析的参数涉及柱类型、pH 和终浓度 %B。

### PQD 公式:

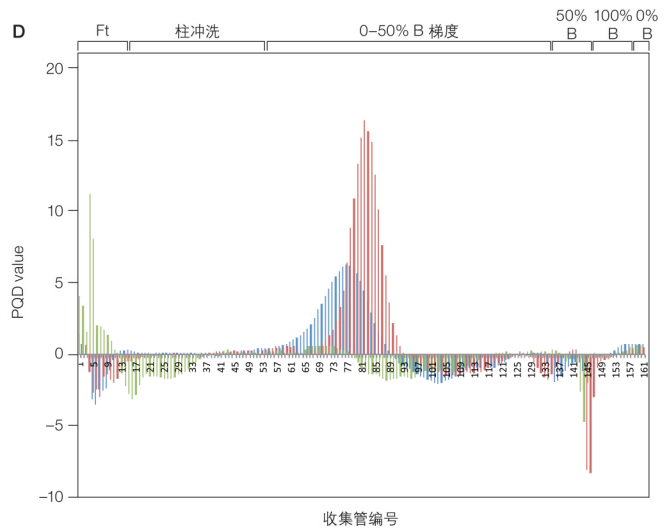
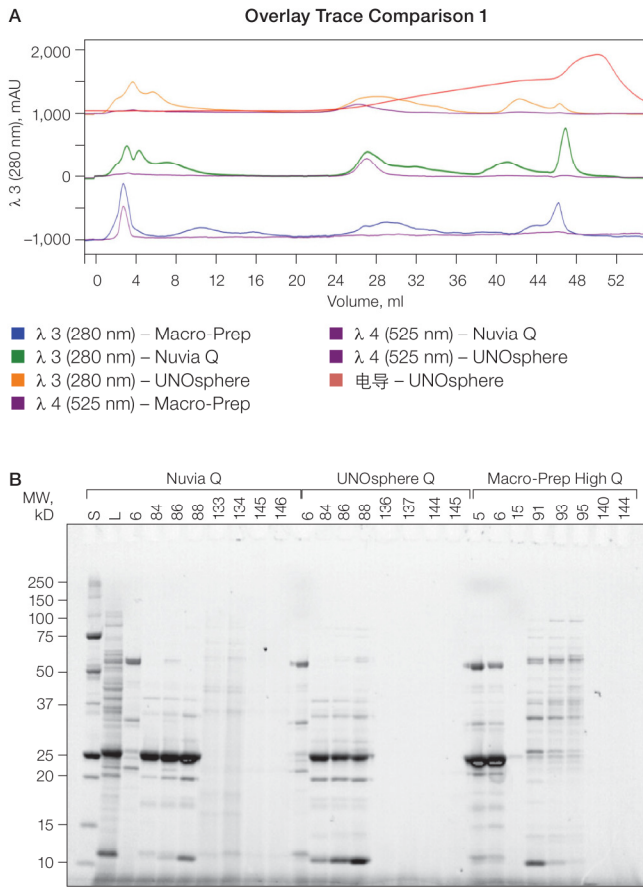
$$PQ = \text{相对面积 (\%)} / \text{收集体积 (ml)}$$

$$PQ_{\text{POI}} - PQ_{\text{杂质}} = \text{PQD}$$

PQD > 0: 目的蛋白 (POI) 多于杂质

PQD < 0: 目的蛋白 (POI) 少于杂质

PQD = 0: 目的蛋白 (POI) 与杂质等量



**图2. 筛选结果.** A, 不同预装柱运行结果叠加图。总蛋白, 280 nm 曲线图 Macro-Prep Q (■), Nuvia Q (■), UNOsphere Q (■) 分别与 525 nm 曲线 (■) 叠加。B, SDS-PAGE 分析。将 20 μl 收集组分上至 26 孔 Any kD Criterion TGX 免染胶。菌体裂解液 (L) 预先按照 1:10 比例稀释。Prancer Purple 分子量: 26.4 kD。标准蛋白选择 Precision Plus 蛋白免染标准品。C, Nuvia Q 不同条件运行结果用 ChromLab 软件内置分析功能进行数据处理。经过积分处理后, 选择图示的数据表内每一个组分的相关面积和收集体积计算各组分的纯度。D, 不同预装柱各收集组分的 Prancer Purple 纯度差异直方图 (PO<sub>525</sub>-PO<sub>280</sub>)。UNOsphere Q (■); Nuvia Q (■); Macro-Prep Q (■)。

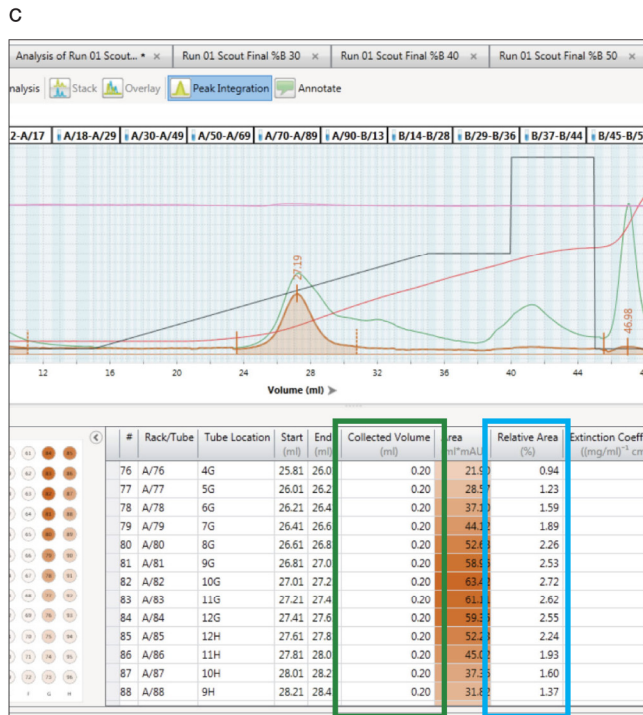
**Prancer Purple 结合比率计算**

各筛选条件运行结果用 ChromLab 软件的分析功能打开。使用默认设置对 525 nm 吸收曲线进行自动峰积分操作, 然后转换至手动操作模式, 在峰积分列表中手动选择三个峰面积进行积分 (穿透、洗脱、100% B), 其中穿透峰的时长为 0.98-7.39 ml, 洗脱峰的时长为 22.17-31.82 ml, 清洗 (100% B) 的时长为 45.49-52.41 ml。

**结果**

**通过柱筛选确认最适的蛋白结合介质**

采用 *E.coli* 原核重组表达体系表达未标记的 Prancer Purple 蛋白。根据预测知 Prancer Purple 蛋白的等电点 (pI) 为 6.65, 因而选择 pH 7.5 的缓冲液, 使用阴离子交换介质进行初步纯化。Bio-Rad 能够提供多种不同颗粒直径和化学特性的阴离子交换介质。由于样品初提液比较粘稠, 因此选择初步纯化用的介质时, 推荐使用大颗粒直径的填料, 以便能够适应更快的流速。



我们选择的 3 种阴离子交换预装柱分别为：1 ml Foresight Nuvia Q，1 ml Bio-Scale Mini UNOsphere Q 和 1 ml Bio-Scale Mini Macro-Prep High Q。将这三支预装柱分别接入 NGC 系统柱选择阀的不同接口处。用 ChromLab 软件建立实验方法，使用指定的缓冲液和流速，可用于三种不同的预装柱。在 ChromLab 中的 Scout 功能内的柱位选项中进行层析柱柱位的调整选择，目的是测定相同缓冲液和流速条件下，样品与不同层析柱的结合情况。编辑好的方法可设定为自动队列逐个运行，再结合自动进样泵与组分收集器，就可完成全自动自样品进样--实验--组分收集全流程。

但是，即使这三支预装柱均为阴离子介质，由于填料的化学性质不同，对于 Prancer Purple 蛋白的结合也有明显的差异。如表 1 中所示，Prancer Purple 能够有效地与 Foresight Nuvia Q 介质结合，而对于 Macro-Prep High Q，其结合力较 Nuvia Q 要弱，对于 UNOsphere Q 基本不结合（图 2）。而纯度差异（PQD<sub>PP</sub>）以及 SDS-PAGE 的结果也同样支持上述结论，即 Nuvia Q 是最适合 Prancer Purple 蛋白第一步纯化用的介质。

表1. Prancer Purple 相对面积百分比

	Start, ml	End, ml	Relative Area, %
<b>Run: Macro-Prep</b>			
Flowthrough	0.98	7.39	55.44
Elution	22.17	31.82	36.2
100% B	45.49	52.41	8.36
<b>Run: Nuvia Q</b>			
Flowthrough	0.98	7.39	25.63
Elution	22.17	31.82	67.67
100% B	45.49	52.41	6.7
<b>Run: UNOsphere</b>			
Flowthrough	0.98	7.39	33.68
Elution	22.17	31.82	61.04
100% B	45.49	52.41	5.28

**pH 条件筛选确认最适结合 pH**

在选定了最适的首步纯化介质后，我们接下来优化方法寻找最合适的缓冲液 pH。由于 pH 直接影响到蛋白质的带电状态，因此这是离子交换层析中一个至关重要的影响因素。利用缓冲液在线配制阀结合 ChromLab 软件内置的 pH Scouting 功能，我们测试了从 7.0 至 8.5 不同 pH 条件下 Prancer Purple 蛋白与 Foresight Nuvia Q 介质的结合，所有测试实验均采用方法队列、自动运行模式。虽然 Prancer Purple 蛋白与 Foresight Nuvia Q 介质在测试 pH 下均能结合，但是在高 pH 条件下会导致更多的杂质与介质结合（图3）。为了尽可能减少杂质的结合，我们最终选定 pH 为 7.5。

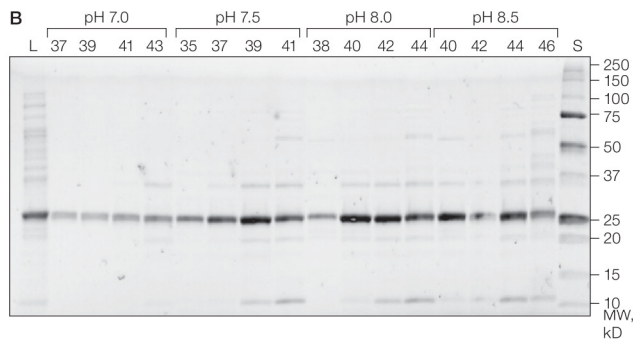
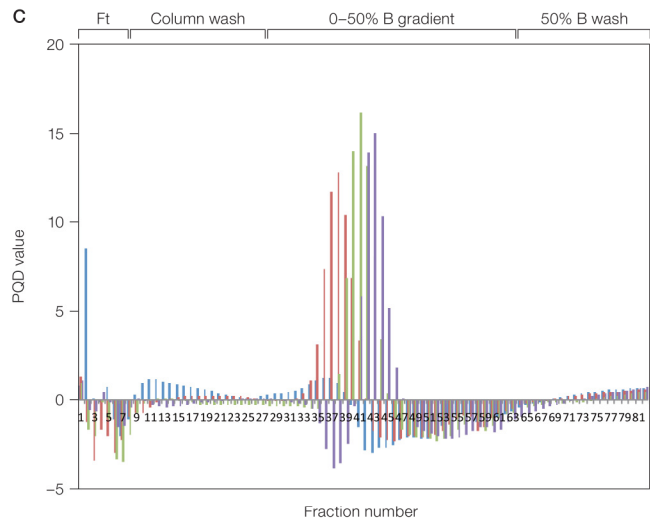
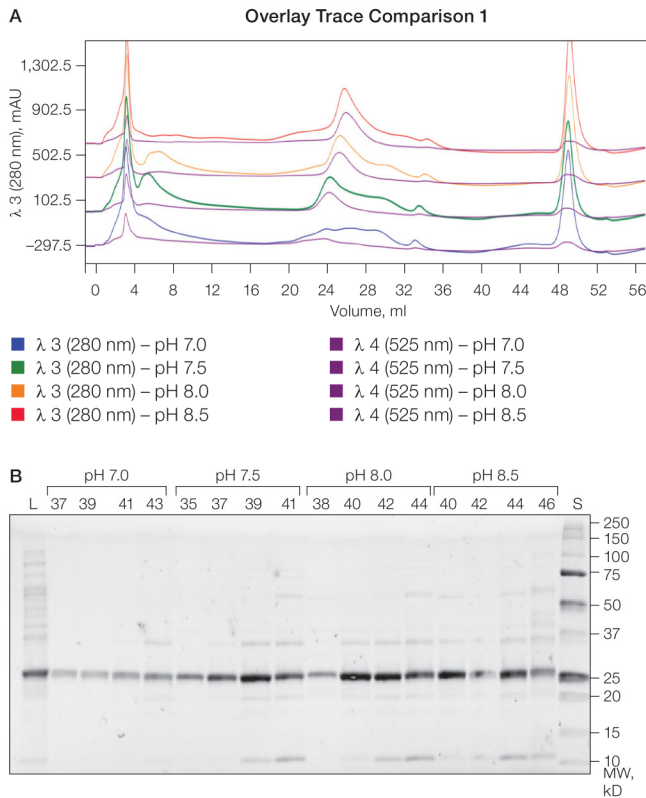
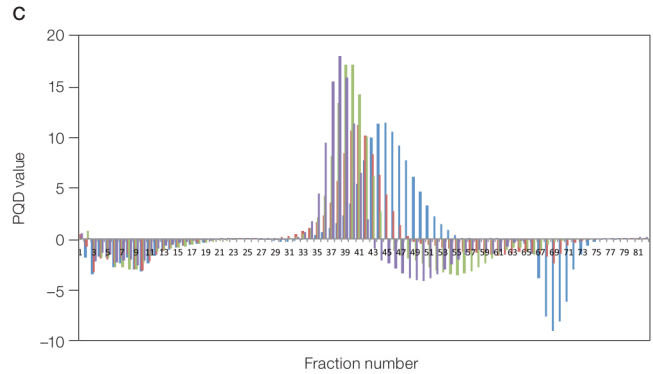
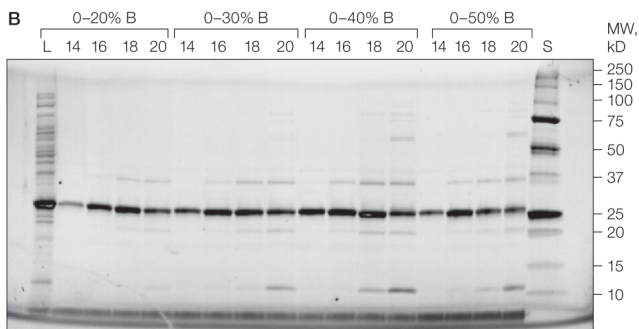
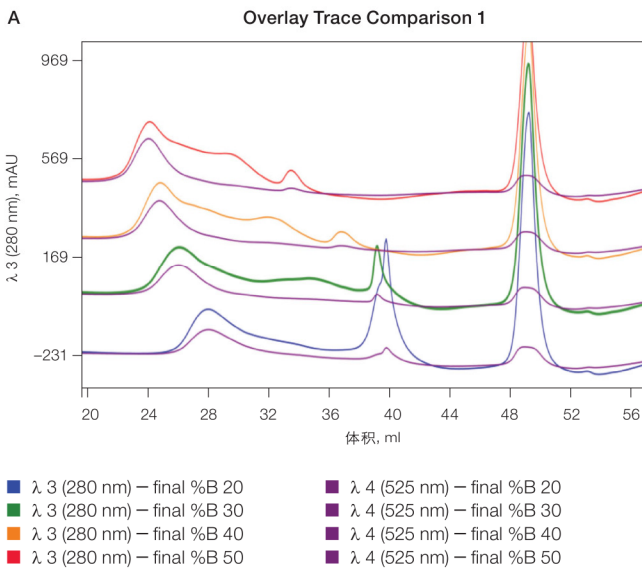


图3. pH 条件筛选. A, 不同预装柱运行结果叠加图。总蛋白, 280 nm 曲线图, pH 7.0 (■), 7.5 (■), 8.0 (■), 和 8.5 (■) 分别与 525 nm 曲线 (■) 叠加。B, SDS-PAGE 分析。将 20 μl 收集组分上至 18 孔 Any kD Criterion TGX 免染胶。菌体裂解液(L) 预先按照 1:10 比例稀释。Prancer Purple 分子量: 26.4 kD。标准蛋白选择 Precision Plus 蛋白免染标准品。C, 不同 pH 条件下各收集组分的 Prancer Purple 纯度差异直方图 (PQD<sub>525</sub>-PO<sub>280</sub>)。pH 7.0 (■), 7.5 (■), 8.0 (■), 和 8.5 (■)。

### %B 梯度筛选确认最适洗脱浓度和梯度

一旦确定了最适 pH 后, 我们需要对洗脱步骤进行优化, 以尽可能地将 Prancer Purple 蛋白与杂质分离。利用 ChromLab 软件中内置的 %B Scouting 功能, 我们设定了一系列不同 %B 终浓度的方法, 采用线性梯度洗脱, 梯度长度统一为 10 倍柱体积。结果显示, 0-20% B 的线性梯度洗脱能够获得相对最优结果 (图 4A, B)。但是仍然有少量高和低分子量的杂质存在于洗脱样品中, 这意味着我们需要额外的纯化步骤以获得最优结果 (图 4B)。



**图4. %B条件筛选.** A. 不同预装柱运行结果叠加图。总蛋白, 280 nm 曲线图, 20 倍柱体积线性梯度洗脱, %B终浓度分别为: 20% B (■), 30% B (■), 40% B (■), 和 50% B (■) 分别与 525 nm 曲线 (■) 叠加。B. SDS-PAGE 分析。将 20  $\mu$ l 收集组分上至 18 孔 Any kD Criterion TGX 免染胶。菌体裂解液 (L) 预先按照 1:10 比例稀释。Prancer Purple 分子量: 26.4 kD。标准蛋白选择 Precision Plus 蛋白免染标准品。C. 不同 pH 条件下各收集组分的 Prancer Purple 纯度差异直方图 (PO<sub>525</sub>-PO<sub>280</sub>)。20% B (■), 30% B (■), 40% B (■), 和 50% B (■)。

### 用 Bio-Scale Mini CHT II 基磷灰石介质对残留杂质进行估算

在最初的柱筛选阶段, 我们也尝试了 Prancer Purple 蛋白与混合模式层析介质的结合测试, 结果显示 CHT II 型介质对 Prancer Purple 蛋白具有很高的亲和力, 而 CHT II 柱层析的洗脱组分中的杂质与 Foresight Nuvia Q 洗脱组分中的杂质不同。因此我们选择 CHT II 作为第二步纯化介质, 以去除 Foresight Nuvia Q 洗脱组分中的杂质。正如 Any kD Criterion TGX 免染胶结果所显示的, 优化后的 Foresight Nuvia Q---Bio-Sacle Mini CHT II 层析方法能够获得高纯度的 Prancer Purple 蛋白 (图 5)。

### 用分子筛层析对样品进行缓冲液置换以及精纯

对于诸如蛋白结晶等特定的应用, 最终洗脱缓冲液的成分极其重要。与此类似, 许多应用要求同种工艺方法生产的不同批次的终产品, 其最终样品的缓冲液成分一致。然而, 对于梯度洗脱, 往往洗脱组分内的组成经常是不确定的。因此分子排阻层析 (SEC) 是一种极好的补充, 由于该方法不依赖于缓冲液的梯度混合, 而是使用等度方式洗脱, 因此能够确保不同批次的产品维持相同的缓冲液组成。此外, SEC 也能够去除低丰度杂质、蛋白水解片段以及聚集体等, 确保最终获得高纯度以及结构一致的蛋白。综上, 我们选择分子排阻层析作为整个实验方案的最后一步, 使用的是 ENrich SEC 70 分子筛预装柱, 相比于传统的基于多糖的介质, 这款预装柱具有较高的压力耐受, 因此能够保证更高的运行流速, 极大地节约了实验的运行时间 (图 5)。

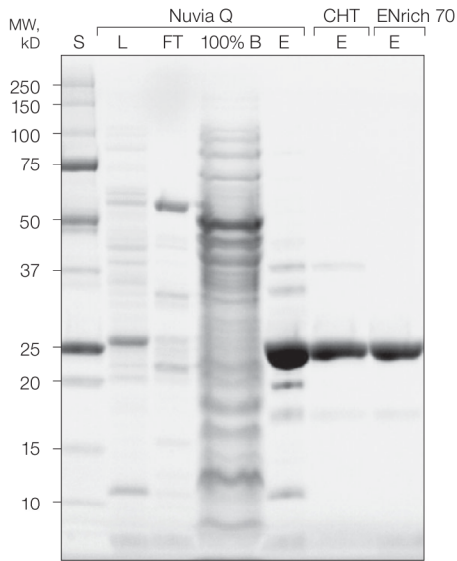


图5. 完整的 Prancer Purple 蛋白纯化工艺流程。免染胶结果。样品上样量为每孔 20  $\mu$ l。裂解液 (L) 和 Nuvia Q 柱穿透液以 1:20 比例稀释后上样。Nuvia Q、CHT II 以及 ENrich 70 的柱洗脱样 (E) 如图所示。Prancer Purple 蛋白分子量: 26.4 kD。

## 讨论

本篇研究说明了, 若对纯化工艺进行深入的探索也能获得高纯度的无标签目的蛋白。然而过于细致入微的工艺探索往往不切实际, 因为确定一个理想的纯化工艺流程需要优化设计每一步所涉及的相关参数, 如层析介质、pH 和 %B 终浓度等。这意味着每一步纯化都需要进行多次试验以确定该工艺流程能够获得理想的高纯度目的蛋白。传统上, 这一过程需要为每一个测试参数 (如层析介质、pH 和 %B 终浓度) 单独设置并编辑相应的方法。而 NGC 系统配套的 ChromLab 软件则允许用户自动甚至加速完成这些令人乏味的工艺运行。

ChromLab 软件能够预设多组运行方法, 并令其按序执行。它能控制 NGC 系统各组件, 如控制样品泵直接进样、缓冲液配制阀配制各种不同的缓冲液以实现 pH 和 %B 条件筛选以及多层析柱间的切换。这些功能使用户能够轻松地完成四种离子交换层析的条件摸索, 而不再像传统的方式, 每次运行都需要用户手动对相同的方法进行编辑设置。与此类似, 在进行 pH 条件摸索时, 用户也不再需要每次实验前都进行缓冲液的配制与 pH 的滴定。最后, 自动的 %B 条件摸索功能使用户能够优化其纯化工艺, 提高目的蛋白的纯度。

我们的数据显示柱切换功能通常是纯化工艺中的一个基本需求, 即使已经选定了介质类型, 如阴离子交换介质。如我们在本篇研究中显示的, 即便是相同类型的介质 (本篇研究中我们使用的是阴离子交换), 也可能对同一蛋白的结合表现出巨大的差异。例如, 本例中尽管 Foresight Nuvia Q 和 Bio-Scale Mini UNOsphere Q 介质都是以三甲铵为功能基团的强阴离子交换介质, 但是 Prancer Purple 蛋白仅与 Foresight Nuvia Q 介质结合。其主要原因, 可能与介质的化学特性及颗粒尺寸相关。

在纯化工艺流程中的第二个挑战是如何评估筛选的结果并从中选出最优的方案。传统上, 分析评估都是基于层析运行时实时生成的蛋白质  $A_{280}$  吸收曲线图谱, 这显示了蛋白质从层析柱上洗脱下的全过程, 而收集的组分则用 SDS-PAGE 进行分析。一个好的方法通常基于 (1) 目的蛋白的产量高, (2) 目的蛋白中的杂质含量少, (3) 目的蛋白的洗脱体积小。而我们在本篇研究中引入了第四个评估因素, 纯度差异 (purity quotient difference, PQD), 对于那些目的蛋白与杂质具有各自的特征吸收的情况, 纯度差异可以用于指导工艺的开发。

由于大部分蛋白含有色氨酸, 因此在 280 nm 处有特征吸收。而对于一些生色蛋白, 荧光标签蛋白或是金属结合蛋白, 如血红蛋白, 以及杂质物质, 如 DNA, 均具有各自的特征吸收波长。因此利用 NGC Discover 全波长检测系统, 我们能够很好地将目的蛋白 Prancer Purple (525 nm 特征吸收) 与杂质蛋白 (280 nm 特征吸收) 完全区分开。同时, 吸收峰的积分峰面积与对应蛋白质的量直接相关, 所以我们能够直接计算目的蛋白 Prancer Purple 的纯度差异。

ChromLab 软件不仅能够计算色谱图的峰面积, 也能计算相对面积, 即选定的部分洗脱峰组分占总目的蛋白洗脱峰的百分比 (图 2C)。因为我们希望确定的工艺方法能够获得高浓度的 Prancer Purple 蛋白, 所以需要相对面积进行均一化处理, 即用相对峰面积除以收集体积。我们称该值为纯度, 用于 Prancer Purple 蛋白和总蛋白的衡量依据。

对于以制备为目的的层析, 不仅仅是为了获得大量蛋白, 而是获得大量高纯度的蛋白。传统上, 纯度的测定依赖于 SDS-PAGE。而在本篇研究中, 我们根据目的蛋白的纯度 ( $PQ_{525}$ ) 减去杂质的纯度 ( $PQ_{280}$ ), 就可计算出目的蛋白的纯度差 ( $PQD_{PP}$ )。

根据前述的计算方法, 当 PQD 为 0 时说明杂质与目的蛋白等量, 而  $PQD > 0$  时说明目的蛋白占多数, 若  $PQD < 0$  时则杂质占多数。根据各收集组分的 PQD 值, 可以绘制出相应的直方图, 将各直方图叠加后可确定最终收集的样品范围, 以确保最少的管数最高的 PQD 值。

但是, PQD 值并不能完全取代 SDS-PAGE。虽然高 PQD 值说明组分中目的蛋白占多数, 但是并不能排除杂质蛋白的存在。而 pH 的综合 PQD 直方图说明, 单纯的 pH 值上升, 从 7.5 至 8.0 (图 3C), 并不能对纯化工艺产生明显的改善。而 SDS-PAGE 分析, 能够清晰地显示出在 pH 8.0 条件下, 有更多的杂质蛋白与目的蛋白一同洗出。

PQD 直方图也不能指出杂质的特性。比如, 在最初的介质筛选阶段, 我们测试了包括混合模式层析 CHT II 在内的多种介质。而后发现, 用 Foresight Nuvia Q 和 CHT II 介质均能纯化获得目的蛋白 Prancer Purple, 但是洗脱组分中伴随的杂质并不相同。因此, 我们能够确定一个合适的第二步纯化介质。这一结果也强调, 不仅要鉴定目的蛋白的纯度也要鉴定不同介质纯化后收集组分中的杂质, 这或许会对我们后续步骤中纯化介质的选择有所帮助。通过 SDS-PAGE 分析, 辅之 Bio-Rad 特有的 Any kD Criterion TGX 免染胶, 我们只需 30 分钟, 就能够快速、清晰地分析数量繁多的洗脱组分中的目的蛋白。

将 SDS-PAGE 与前述的 PQD 方法结合, 我们能够对多种筛选结果进行分析, 如层析介质、pH 以及 %B 浓度, 以及反相层析中有机相的选择或者疏水作用层析中的硫酸氢浓度的优化。如本篇研

究中阐明的, Bio-Rad NGC 中高压层析系统能够全自动地完成这些令人乏味的工作, 配合 ChromLab 软件直观的方法编辑、内容丰富的纯化模板, 用户能够轻松地完成无标签蛋白的纯化而无需再为纯度让步。