

## rProtein L Agarose Resin 4FF 蛋白 L 琼脂糖快速纯化树脂

### 产品简介

天然蛋白 L (Protein L) 是从马格努斯消化链球菌分离出来的能和免疫球蛋白特异性结合的蛋白质，分子量为 36 KD。本产品使用的是基因改造后的蛋白 L，既保留了与抗体 k 链结合的特性，同时也不会影响抗体的抗原结合位点。与 protein A 和 Protein G 相比，Protein L 更能广泛地结合各种来源及亚类的抗体，包括人、小鼠、大鼠、兔和鸡，但不结合牛、山羊或绵羊来源的免疫球蛋白。

rProtein L Agarose Resin 4FF 是用于分离和纯化单克隆抗体的通用性亲和层析介质，产品以高度交联的琼脂糖凝胶为基质，重组 Protein L 为配基，具有很高的物理化学稳定性，可以在相对较高的流速下进行抗体的纯化，适用于工业客户。利用本产品经过一步亲和层析，可从腹水、血清和培养液等样品中得到高纯度的抗体，使用方便，应用广泛。

### 产品信息

货号	36408ES08 / 36408ES25/36408ES60
规格	5 mL /25 mL/100 mL

### 产品性质

基质 (Matrix)	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体 (Ligand)	重组蛋白 L
孔径 (Bead size)	45-165 $\mu\text{m}$
最大流速 (Flowmax)	0.3 MPa, 3 bar
储存缓冲液 (Buffer)	含 20%乙醇的 1 $\times$ PBS
载量 (Capacity)	>15 mg Mouse IgG/mL 基质
pH 范围 (pH range)	3-10

### 储存条件

2~8°C保存，有效期 2 年。

### 需准备试剂

所用水和 Buffer 在使用前最好用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤除菌。

**平衡/洗杂缓冲液:** 0.15 M NaCl, 20 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.0

**洗脱缓冲液:** 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

**中和液:** 1 M Tris-HCl, pH 8.5

### 使用说明

【注】上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用平衡/洗杂缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用平衡/洗杂缓冲液透析。样品在上样前最好用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤，减少杂质以防阻塞柱子。

**1. rProtein L Agarose Resin 4FF 的装填** (以各种中压色谱层析柱的装填为例)

- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1-2 cm 的去离子水。
- 2) 将树脂悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。

3) 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。

4) 打开层析柱底部出口，开起泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。

【注】在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%，当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。

5) 关闭泵，关闭层析柱出口。

6) 如果使用储液器，去除储液器，将分配器至于层析柱中。

7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。

8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中，开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

## 2. 样品纯化

1) **平衡**：用 5 倍柱体积的平衡 Buffer 平衡层析柱，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下，起到保护蛋白的作用。

2) **上样**：将样品加到平衡好的 rProtein L Agarose Resin 4FF 中，保证目的蛋白与树脂充分接触，提高目的蛋白的回收率，收集流出液，待检测。

【注】样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。

3) **洗杂**：用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗，直到紫外吸收达到一个稳定的基线，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液，待检测。

4) **洗脱**：使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer，收集洗脱液，即目的蛋白组分。

5) **清洗及保存**：依次使用 3 倍柱体积的平衡 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料，最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20% 的乙醇中，置于 4°C 保存，防止填料被细菌污染。

## 3. SDS-PAGE 检测

将纯化过程中得到的样品（包括原始样品、流出组分、洗杂及洗脱组分等）利用 SDS-PAGE 进行检测，判定其纯化效果。

## 4. 树脂清洗

rProtein L Agarose Resin 4FF 可以重复使用而无需再生，但随着一些变性物质的沉淀和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量下降，影响柱子的性能，这时需对柱子进行清洗：

### 1) 去除沉淀或变性物质

用 2 倍柱体积的 6 M 盐酸胍溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

### 2) 去除由于疏水性吸附造成的非特异吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70% 乙醇或 2 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

## 注意事项

1. 请勿冷冻保存本产品。
2. rProtein L Agarose Resin 4FF 使用前一定要充分颠倒若干次，使琼脂糖珠混合均匀。
3. 所有操作过程中，样本需要在 4°C 或冰上操作。
4. 本产品仅作科研用途。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

## 附表 常见问题与解答

问题	可能原因	推荐解决方法
柱子反压过高	筛板被堵塞	清洗或更换筛板
	填料被堵塞	清洗填料 裂解液中含有微笑的固体颗粒，建议上柱前使用 0.22 μm/0.45 μm 滤膜过滤。
样品纯化过程中曲线不稳	样品或 Buffer 中有气泡	赶出气泡
		样品和 Buffer 进行脱气
洗脱组分中没有目的蛋白	样品中抗体浓度太低	使用其抗原做配体的介质
	抗体被降解	适当的提高洗脱 pH
	样品与 Protein L 结合力低	换用 Protein G 或 Protein A/G 树脂纯化
回收率逐渐减低	上样量太多	减少上样量
	柱子太脏，载量降低	清洗树脂