

## rProtein L 4FF Chromatography Column, 5 mL

### 蛋白 L 纯化预装柱, 5 mL

#### 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。

本品 rProtein L 4FF Chromatography Column, 5 mL 是一种装填了 rProtein L Agarose Resin 4FF 的中压预装柱, 规格 5 mL, 预装柱具有标准接口, 可以适配商品化的各类中压色谱系统, 如 ÄKTA 等, 方便客户操作。

#### 产品信息

货号	36416ES08 / 36416ES25
规格	5 mL / 5×5 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×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  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 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. 样品纯化（以 Akta 为例）

- 1) **准备：**将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中。再折断下口，将预装柱下端口接到色谱系统中，并旋紧。
- 2) **清洗：**3-5 倍柱体积去离子水冲洗层析柱中储存液。
- 3) **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。
- 4) **上样：**将样品加到平衡好的层析柱中，推荐流速 1-5 mL/min，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。

- 5) **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。
- 6) **洗脱：**用洗脱 Buffer 采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5 倍柱体积洗脱液足够将目的蛋白洗脱下来。也可以用一个小梯度，例如 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。
- 7) **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。

### 2. 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。

### 3. 填料清洗

rProtein L 4FF Chromatography Column 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. 所有操作过程中，样本需要在 4°C 或冰上操作。
3. 本产品仅作科研用途。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。