

rProtein L Beads 4FF 的预装柱说明书

货号: AC17643

规格: 1*1mL / 1*5mL / 5*1mL / 3*1mL+1*5mL / 5*5mL

保存: 2-8°C

产品说明:

rProtein L Beads 4FF 是用于分离和纯化单克隆抗体的通用性亲和层析介质。**Protein L** 经过基因重组, 由大肠杆菌表达, 保留了与抗体 κ 链结合的特性, 同时不会影响抗体的抗原结合位点。

Protein L 与人、小鼠的 κ 轻链有较好的结合力, 也可能与其他物种的某些 κ 亚型有特异性结合。**Protein L** 与兔免疫球蛋白结合力很弱, 不结合牛、山羊或绵羊来源的免疫球蛋白。

rProtein L Beads 4FF 是以高度交联的 4%琼脂糖凝胶为基质, 可以在相对较高的流速下进行单克隆抗体和多克隆抗体的纯化。

表 1: 介质性能参数

基质	高度交联 4%的琼脂糖微球
粒径范围	45-165 μ m
配体	重组蛋白 L
结合载量	>15mg 人 IgG/ml(介质)
pH 稳定性	3-10
操作压力	\leq 0.3MPa, 3bar
贮存溶液	20%乙醇

纯化流程:

1、Buffer 的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

平衡/洗杂液: 0.15M NaCl, 20mM Na₂HPO₄, pH 7.0

洗脱液: 0.1M 甘氨酸, pH 3.0

中和液: 1M Tris-HCl, pH 8.5

2、样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 可以用结合/洗杂缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用结合/洗杂缓冲液透析。

样品在上样前建议离心或用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤, 减少杂质, 提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3、样品纯化

1. 上柱: 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, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。

2. 水洗: 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。

3. 平衡: 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。

备注：此步骤用于平衡介质，保证介质中的溶液的组分和 pH 与样本一致。

4. 利用泵或注射器上样。

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：用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积）。

6. 洗脱：使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱，收集洗脱液，即目的蛋白组分。洗脱组分需要立即调成中性，一般建议使用洗脱组分体积 1/10 的中和液进行中和。

7. 水洗：依次使用 3 倍柱体积的平衡液和 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℃ 保存，防止填料被细菌污染。

4、SDS-PAGE 检测

将纯化过程中收集的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

填料清洗

rProtein L Beads 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都下降，严重影响柱子的性能，这时需要对树脂进行清洗。

1. 去除一些沉淀或变性物质

用 2 倍柱体积的 6M 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. 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

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

常见问题

表 1：常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
柱子反压过高	1. 筛板被堵塞	清洗或更换筛板
	2. 填料被堵塞	样品上柱前使用滤膜(0.22 或 0.45 μ m) 过滤，或者离心去除。
		进行树脂清洗
样品纯化过程中曲线不稳	样品或缓冲液中有气泡	去除样品或柱子中的气泡
		样品和缓冲液进行脱气
洗脱组分中没有目的蛋白	1. 样品中抗体浓度太低	使用其抗原做配体的介质
	2. 抗体被降解	适当的提高洗脱 pH
回收率逐渐减低下降	1. 上样量太多	减少上样量
	2. 柱子太脏，载量降低	进行树脂清洗
色谱峰上升缓慢	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱