

HB210824

rProtein L Agarose Resin 蛋白 L 琼脂糖纯化树脂

产品信息

产品名称	产品编号	规格
rProtein L Agarose Resin 蛋白 L 琼脂糖纯化树脂	36407ES08	5 mL
	36407ES25	25 mL
	36407ES60	100 mL

产品描述

YEASEN rProtein L Agarose Resin 是用于分离和纯化单克隆抗体的通用性亲和层析介质，具体性能见产品性质。Protein L 经过基因重组，由大肠杆菌表达，保留了与抗体 K 链结合的特性，同时不会影响抗体的抗原结合位点。Protein L 与 protein A 和 Protein G 相比，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。

产品性质

指标	性能
基质 (Matrix)	4%琼脂糖微球
配体 (Ligand)	重组蛋白 L
孔径 (Bead size)	45-165 μm
最大流速 (Flow _{max})	0.1 MPa, 1bar
储存缓冲液 (Buffer)	20% 乙醇
载量 (Capacity)	>15 mg human IgG/mL 介质
pH 范围 (pH range)	3-10

运输与保存方法

冰袋运输。2-8°C保存，2年有效。

需准备试剂

【注】建议以下缓冲液在使用前用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

结合/洗杂缓冲液: 0.15 M NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, pH7.0

洗脱缓冲液: 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

中和液: 1 M Tris-HCl, pH 8.5

使用方法

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

1 样品纯化（以 Akta 系统为例）

- 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:** 将 rProtein L Beads 装入合适的层析柱，用 5 倍柱体积的结合 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 rProtein L Beads 中，推荐流速 1 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。
- 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 5-10 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 倍柱体积的结合 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 树脂清洗

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

- ① 用 2 倍柱体积的 6 M 盐酸胍溶液进行清洗；
- ② 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

- ① 用 3-4 倍柱体积的 70% 乙醇或 2 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 清洗；
- ② 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) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 4) 本产品仅作科研用途！

附录 1 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	填料被堵塞	清洗填料
		裂解液中含有微小的固体颗粒, 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
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