



# AbCap L 4FF

## 目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 填料清洗.....	2
4. 问题及解决方案.....	2
5. 订购信息及相关产品.....	2

## 1. 产品介绍

**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, 具体性能见表 1。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 kappa 轻链有较好的结合力, 也可能与其他物种的某些 kappa 亚型有特异性结合。Protein L 与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。

**AbCap L 4FF** 是一种中低压预装柱, 有 1 ml 和 5 ml 两种规格的预装柱, 分别填充 1 ml 和 5 ml **rProtein L Beads 4FF**, 共有 5 种不同包装规格的产品。预装柱具有标准接口, 可以适配商品化的各类中低压色谱系统, 如 ÄKTA 等, 方便客户操作。

表 1. AbCap L 4FF 产品性能

项目	性能
基质	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体	重组蛋白 L
载量	>15 mg Mouse IgG/ml 介质
粒径范围	45-165 μm
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	3-10
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8 °C

## 2. 纯化流程

### 2.1 缓冲液的准备

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

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

**洗脱液:** 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0

**中和液:** 1 M Tris-HCl, pH 8.5

### 2.2 样品准备

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

### 2.3 样品纯化

**AbCap L 4FF** 是一种分离和纯化单克隆抗体、多克隆抗体的预装柱, 可以用各种常规的中低压色谱系统。

- 1) 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) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。
- 3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。
- 4) 利用泵或样品环上样。

**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) 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) 用 3-5 倍柱体积洗脱液洗脱, 收集目的样品, 中和液中和至中性保存。
- 7) 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 20% 的乙醇中, 置于 2-8 °C, 防止填料被细菌污染。





## 2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（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。

## 3. 填料清洗

AbCap L 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，这时需要对填料进行清洗。

### 去除一些沉淀或变性物质

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。

### 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% Triton™ X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

## 4. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	按照第3部分进行填料清洗
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜（0.22或0.45 μm）过滤，或者离心去除。
样品纯化过程中曲线不稳	样品或 buffer 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	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	按照第3部分进行填料CIP清洗

## 5. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
rProtein L Beads	SA045005	5 ml
	SA045025	25 ml
	SA045100	100 ml
	SA045500	500 ml
	SA04501L	1 L
	SA04510L	10 L
rProtein L Beads 4FF	SA033005	5 ml
	SA033025	25 ml
	SA033100	100 ml
	SA033500	500 ml
	SA03301L	1 L
	SA03310L	10 L
AbCap L 4FF	SA033C11	1×1 ml
	SA033C51	5×1 ml
	SA033C15	1×5 ml
	SA033C55	5×5 ml
	SA033CS	3×1 ml+1×5 ml

