

## UltraBio™ Protein L 琼脂糖磁珠

### P1374921

#### 产品介绍

UltraBio™ Protein L 琼脂糖磁珠由 NHS 活化的超顺磁性微球与 Protein L 共价结合形成。该产品具有较高的抗体结合能力和较低的蛋白非特异吸附率，洗脱条件均一，一步纯化即可从血清样品中分离出纯度大于 90% 的抗体；尤其适用于同时纯化多个样品，样本和磁珠的体积范围也可灵活的调整，纯化的过程能够简便的放大，且配备不同的磁力架可同时处理 1-96 个样本。

参数	指标
基质	琼脂糖
配基	Protein L
含量	Slurry: 20%
粒径	10-37 $\mu\text{m}$
载量	$\geq 30\text{mg IgG/mL}$ (100%, v/v)
保存	2-8 $^{\circ}\text{C}$ (20% 乙醇)

#### 实验前准备

推荐缓冲液:

Binding/ Wash Buffer: PBST (137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 2.0mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.1% Tween-20), pH 7.2-7.4

Elution Buffer: 100mM Gly, 0.1% Tween-20, pH 2.5

Neutrillization Buffer: 1.0M Tris-HCl, pH 9.0

Storage Buffer: PBST (含 0.05% Proclin300) 或 20%乙醇

#### 操作步骤

以纯化人血清为例，具体操作如下：

##### 1. 样品处理

取人血清 100 $\mu\text{L}$  (一般血清样品中抗体含量约 2-8mg/mL)至 1.5mL 离心管中，加入 900 $\mu\text{L}$  Binding/Washing Buffer，充分混匀。

##### 2. 磁珠预处理

- 充分混匀磁珠后，取 200 $\mu\text{L}$  磁珠悬液到 2mL 离心管中，磁性分离，弃上清；
- 加入 1mL Binding/Washing Buffer 于离心管中，反复颠倒 3-5 次使磁珠充分重悬，磁性分离，弃上清；该步骤重复一次。

注：磁珠的用量可根据磁珠对目标抗体的最大结合量进行调节，可根据磁珠的抗体结合

能力计算磁珠的大概用量，建议磁珠用量应为目标抗体含量的 1.2-1.5 倍。

### 3. 抗体结合

在处理好的磁珠管中加入步骤 1 处理的样品溶液，振荡均匀，在室温下置于翻转混合仪或者手动轻轻翻转，使样品和磁珠充分接触混合结合 15mins，进行磁性分离，弃上清。

### 4. 清洗磁珠

加入 1mL 的 Binding/Washing Buffer 于离心管中，反复颠倒 3-5 次使磁珠充分重悬，磁性分离，弃上清；再重复该步骤 2 次。

### 5. 目标抗体洗脱

1)加入 0.5-1mL Elution Buffer，室温下置于翻转混合仪或者手动轻轻翻转 10mins，置于磁力架上进行磁性分离，收集洗脱液到新的离心管中，即为纯化的目标抗体；

2)若需要，可重复上述步骤，收集洗脱液至新离心管中，以检测目标抗体是否完全洗脱(Elution Buffer 用量建议最终洗脱抗体浓度在 0.5-1.2mg/mL，以确保一次洗脱可将 95%以上的目标抗体被洗脱下来，用量过少会导致洗脱后仍有部分抗体残留于磁珠上)。

### 6. 抗体中和

在以上含抗体的洗脱液中加入 1/10 抗体洗脱体积的 Neutrilization Buffer，混匀使其 pH 值保持在中性环境下，以维持抗体的生物活性，避免失活。

### 磁珠后处理

1)向装有磁珠的离心管中加入 1mL Elution Buffer，涡旋震荡 5s，磁性分离弃上清。重复操作 2 次；

2)加入 1mL Binding/Washing Buffer，涡旋 5s，磁性分离弃上清；重复操作 2 次；

3)加入 Storage Buffer 重悬磁珠，置于 2-8℃保存。

### 磁珠再生

磁珠多次使用后会有沉淀蛋白、强疏水性蛋白、脂蛋白等杂质非特异性吸附到磁珠上，为了保证磁珠的使用效率，建议持续使用 5 次后进行磁珠再生处理。

1)约每 1 mL (20%, v/v) 磁珠加入 1 mL (1%, v/v) Triton X-100 磁珠再生缓冲液，振荡均匀，在室温下置于翻转混合仪或者手动翻转混合 10 mins 后进行磁性分离，弃上清；

2)加入 1 mL Binding/Washing Buffer 进行重悬，磁性分离，弃上清，重复该操作 3 次；

3)加入 1 mL Storage Buffer 重悬磁珠，置于 2-8℃保存。

### 流程优化

磁珠与抗体的结合效率与抗体的种属来源及所属亚型有关，请确认抗体的类型与 Protein L 配基的亲合效率（附表）：

1. 抗体所属亚型与 Protein L 的亲合度较低：
  - a. 增加抗体与磁珠的孵育时间 (30-120 mins)；
  - b. 提高结合缓冲液的 pH 值 (8-9)；
  - c. 降低离子强度 (25-100 mM NaCl) 等方法提高

亲和效率； d. 选择与目标抗体具有更高亲和度的配基（如 Protein G 或 Protein A）。

2. 抗体与 Protein L 配基亲和力太高导致抗体洗脱效率低： a . 降低洗脱缓冲液的 pH 值 1.9-2.5； b . 增大洗脱缓冲液的离子强度（可选用 2-3 M MgCl<sub>2</sub>）； c . 延长洗脱时间，提高洗脱效率。

### 注意事项

1. 磁珠使用前应充分混匀，确保磁珠悬液处于均一状态；
2. 磁珠使用后于保存液中储存 2-8℃，避免冷冻或离心；

### 附表

Ig origin	Affinity for Protein L	Ig origin	Affinity for Protein L
Human IgG	+++	Goat IgG1 ,2	-
Human IgG1,2,4	++++	Sheep IgG	-
Human IgG3	+++	Sheep IgG1,2	-
Human IgM	+++	Rat IgG	+++
Mouse IgG, IgG1	+++	Rat IgG1	+++
Mouse IgG2a, 2b, 3	+++	Rat IgG2a,2b,2c	+++
Mouse IgM	+++	Rat IgG3	NA
Rabbit IgG	+	Dog IgG	NA
Goat IgG,	-	Pig IgG	+++