

Biolinkedin® 耐碱 Protein A 抗体纯化试剂盒

包装清单

名称	货号	包装
耐碱 Protein A 抗体纯化试剂盒	AK-2205	盒

产品概述

Biolinkedin® 耐碱 Protein A 抗体纯化试剂盒是以耐碱 Protein A 琼脂糖凝胶和优化预制的缓冲液以及 2 套层析柱空柱套装组成,适用于血浆、腹水、组织培养上清液等样品中的抗体纯化。

该产品具有更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。

试剂盒组成

耐碱 Protein A 琼脂糖凝胶 (单品货号: L-2205)	10mL (50% v/v)
抗体结合缓冲液	2*100 mL
抗体洗脱缓冲液	100 mL
抗体中和缓冲液	15 mL
凝胶保存液	15 mL
蛋白快速染色液	50 mL
SDS-PAGE Sample Loading buffer (5×)	10 mL
亲和层析柱空柱套装	2 套

操作流程

(以纯化人血清 IgG 为例)

1. 样品准备

上样之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值,用抗体结合缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释,或者将样品置于抗体结合缓冲液透析。样品在上样前建议离心并用 0.22µm 或 0.45µm 滤膜过滤,减少杂质,提高抗体纯化效率。

2. 样品纯化 (二选一)

2.1 孵育法纯化

1) 根据纯化的样品量,取适量耐碱 Protein A 琼脂糖凝胶加入离心管中,1000rpm 离心 3~5min,去除上清;

2) 向离心管中加入 2 倍凝胶体积的抗体结合缓冲液清洗凝胶,1000rpm 离心 3~5min,去除上清,重复 1 次。
3) 加入样品,置于旋转混匀仪,2~8°C 孵育 2~4h 或者过夜孵育。

4) 孵育结束后,1000rpm 离心 3~5min,吸取上清至新离心管,上清保留作为流穿,用于电泳鉴定。

5) 用 2 倍凝胶体积的抗体结合缓冲液清洗凝胶,1000rpm 离心 3~5min,吸取上清,收集洗杂液(注意不要吸到凝胶),重复 2 次,中间建议更换新离心管。

6) 加入 2~3 倍凝胶体积的抗体洗脱缓冲液进行洗脱,室温孵育 10min,1000rpm 离心 3~5min 收集洗脱液,可重复 2~3 次。洗脱液需要立即调成中性,一般建议使用洗脱组分配比 1/10 的抗体中和缓冲液进行中和。

3.2 层析柱法纯化

1) 取合适规格的亲和层析柱,装入垫片,加入适量去离子水润洗柱管和垫片,关闭下出口。

2) 将耐碱 Protein A 琼脂糖凝胶混合均匀,用移液器吸取适量凝胶加入至层析柱中,打开下出口流出保护液。

3) 加入适量去离子水冲洗凝胶,待柱中液体流出后,关闭下出口。

4) 将装填好的耐碱 Protein A 琼脂糖凝胶层析柱用 2 倍柱体积抗体结合缓冲液进行平衡,使凝胶处于与目的蛋白相同的缓冲液体系下,重复 1 次。

5) 将样品加到平衡好的层析柱中,置于旋转混匀仪,2~8°C 孵育 2~4h 或者过夜孵育。孵育结束后,收集流穿,用于电泳鉴定。

6) 用 5 倍凝胶体积的抗体结合缓冲液进行洗杂,去除非特异性吸附的杂蛋白,收集洗杂液。重复 2 次。

7) 使用 2~3 倍凝胶体积的抗体洗脱缓冲液洗脱,收集洗脱液。洗脱液需要立即调成中性,一般建议使用洗脱液体积 1/10 的抗体中和缓冲液进行中和。

3. SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流穿、洗杂液和洗脱液）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。将 PAGE 胶取下放入塑料器皿中，加入适量**蛋白快速染色液**覆盖 PAGE 胶，然后置于摇床上摇动，染色时间 0.5~2h 或过夜均可。染色结束后，PAGE 胶放置于水中保存并拍照。

（可选）凝胶清洗与保存

使用后的凝胶可用 2~3 倍凝胶体积的**抗体洗脱缓冲液**重悬凝胶，1000rpm 离心 3~5min，去除上清。重复 2 次。再加入 2~3 倍凝胶体积的**抗体结合缓冲液**，重悬凝胶，1000rpm 离心 3~5min，去除上清。重复 2 次。再加入同体积**凝胶保存液**，置于 2~8°C 保存。

注意事项

1. 进行实验操作之前，请务必认真阅读本操作说明书。
2. 琼脂糖凝胶使用前应充分混合均匀。凝胶应保存在储存溶液中，防止干燥。
3. 本产品仅供科学研究使用。

相关产品

货号	产品名称
AK-2201	Protein A 抗体纯化试剂盒
AK-2202	Protein G 抗体纯化试剂盒
AK-2203	Protein L 抗体纯化试剂盒
AK-2204	Protein A/G 抗体纯化试剂盒
AK-2205	耐碱 Protein A 抗体纯化试剂盒

附表 1：耐碱 Protein A 与不同来源及类型的抗体亲和性

Species	Antibody Subtype	耐碱 Protein A	
Human	Total IgG	+++++	
	IgG1, IgG2	+++++	
	IgG3	-	
	IgG4	+++++	
	IgM	+	
	IgD	-	
	IgA	+	
	IgA1, IgA2	+	
	IgE	+++	
	Fab	+	
ScFv	+		
Mouse	Total IgG	+++++	
	IgM	-	
	IgG1	+	
	IgG2a, IgG2b	+++	
	IgG3	+++	
Rat	Total IgG	+++	
	IgG1	+	
	IgG2a	+	
	IgG2b	+	
Cow	Total IgG	+++	
	IgG1, IgG2	+++	
	Goat	Total IgG	+++
		IgG1, IgG2	+++
Sheep	Total IgG	+++++	
	IgG1, IgG2	+++++	
Horse	Total IgG	+++++	
	IgG(ab), IgG(c)	+	
	IgG(T)	+	
Rabbit	Total IgG	+++++	
Guinea Pig	Total IgG	+++	
Hamster	Total IgG	+++	
Pig	Total IgG	+++++	
Donkey	Total IgG	+++	
Cat	Total IgG	+++++	
Dog	Total IgG	+++++	
Monkey	Total IgG	+++	
Chicken	Total IgG	-	
Notes:	+ weak binding	+++ medium binding	
	+++++ strong binding	- no binding	