



IgG3 亚类小鼠单克隆抗体纯化试剂盒

货号	规格
BF06191	可处理50ml腹水

试剂原理

本试剂盒利用不同蛋白需要的沉淀试剂和沉淀条件不同,通过大量实验分析验证而得到的一个与传统沉淀纯化相比有较大不同的精细的具有高活性、高产率、快速以及良好重复性的单克隆抗体的纯化方法。

试剂特点

本试剂盒特点在于纯化操作的简单化、所得抗体保持高活性和较高纯度。实验表明,本试剂盒可以得到90%以上纯度的抗体;并且由于配方考究,抗体在纯化过程中几乎没有损伤,完全保持应有的活性;实际应用极好。

适用范围

本试剂盒适用于小鼠 IgG3亚类的单克隆抗体腹水的纯化,不能用于 IgG1、IgG2a、IgG2b、IgM 和 IgA 类单克隆抗体腹水的纯化实验。

试剂组成

试剂名称	数量	试剂名称	数量
纯化液 A	50ml	纯化液 E	5ml
纯化液 B	50mL	透析试剂(粘稠或固体)	配8L 量
纯化液 C	50mL	透析袋	4份
纯化液 D	50mL		

纯化步骤:

1. 从冰箱中取出试剂盒放置室温恢复温度30min,期间可将单克隆抗体腹水从冰箱中取出,室温避光复温15min,随后用自来水边冲边摇匀快速解冻。
2. 将化开的单克隆抗体腹水8000-12000rpm 室温 离心10min。
3. 先吸弃最上面浮沫和油脂,然后将上清转出到另一个干净容器或离心管;按每1ml 单克隆抗体腹水加入纯化液 A (加前确定没有试剂析出,如有析出摇晃溶解即可) 1ml (必须精确),室温避光倒转30分。
4. 8000rpm 室温离心10-20min,沉淀用纯化液 B 溶解到原单克隆抗体腹水1/2体积,再按此体积每1ml 加入纯化液 C (加前确定没有试剂析出,如有析出摇晃溶解即可) 1ml (必须精确),室温避光倒转10min;
5. 8000rpm 室温离心10-20min,弃沉淀收集上清;每1ml 上清液加纯化液 D (加前确定没有试剂析出,如有析出摇晃溶解即可) 1ml (必须精确),室温避光倒转20min。
6. 8000rpm 室温离心10-20min,收集沉淀用纯化液 B 收集溶解沉淀到原单克隆抗体腹水体积的1/3。透析袋用纯水浸泡3-5min,然后用手揉捏数次,接纯水冲洗干净,抗体放入扎好。透析液用纯水溶解透析试剂到8L,将要透析的抗体袋子放入。抗体体积:透析液体积=1:100,4°C透析过夜。收集透析后抗体。
7. 以透析后抗体体积:纯化液 E 的体积=9:1的比例加入纯化液 E 摇匀 (也就是9体积抗体加1体积纯化液 E),静置5min。8000rpm 室温离心10min,弃沉淀收集上清即为纯化好的抗体。
8. 将纯化好的抗体放入用透析夹或绳扎紧。抗体体积:透析液体积=1:50以上;4°C透析,中间换液三次,透析总时间不超过24小时。然后8000rpm 室温离心10min,收集上清测蛋白浓度并调控在5mg/ml 左右最后加10/万的 NaN_3 防腐并除菌过滤-20°C备用。

注意事项

1. 溶血严重和腐败的腹水不得用于纯化。
2. 离心温度最好不要超过37°C。
3. 操作和量取试剂要细致精准,否则影响纯度。
4. 不搅拌透析每次静置透析时间不得低于4小时。
5. 如觉得透析太慢可以选择超滤管。