**抗体细纯化试剂盒说明书**

**产品编号：KC-01-1ML**

1. **原理**

本试剂盒采用Protein A和protein G纯化法。Protein A/G 可以和抗体IgG分子的Fc段特异性结合。Protein A/G 作为配基可以被偶联到琼脂糖凝胶上，当抗血清从中流过时，特异性的IgG就与配基结合，其他杂蛋白则穿流而过。因两种蛋白纯化抗体时对不同宿主的抗体的结合能力不同，需要具体选择protein A 或者protein G，或者是protein A/protein G组合。一般推荐小鼠单抗IgG2a，IgG2b，IgG3，兔，人，猪的多克隆抗体用protein A纯化，而小鼠单抗IgG1，大鼠单抗，小鼠，大鼠，山羊的多克隆抗体则选择用protein G纯化。

1. **产品特点**
2. 试剂盒内含有分析所需的所有必需试剂，操作简单便捷；
3. 试剂盒内组分经实验优化，确保更高的检测灵敏度；
4. 保存条件：2-8℃。
5. 规格：待纯化抗体1-5ml

**三、所需材料**

仪器：离心管（1.5 mL、50mL）、0.45µm滤膜、注射器、气流控制器

试剂：去离子水

**四、 试剂盒组成**

|  |  |
| --- | --- |
| 组成部分 | 装量 |
| A柱 | 1ml |
| B液 | 50ml |
| C液 | 5 mL |
| D液 | 2 mL |
| E液 | 10 mL |
| F液 | 10 mL |

1. **纯化步骤**
2. 样品准备：将抗血清与B液1:5混合，用0.45µm滤膜过滤（防止堵塞柱子）。
3. 平衡柱子：用10mL去离子水洗去F液，再用5-10倍体积的B液过A柱。
4. 上样：将准备好的血清样品上样，控制流速20s/滴。
5. 洗脱杂蛋白：用B液洗柱子，直至结合液中不含蛋白。
6. 收集抗体：用C液过柱，同时收集漏出液(约0.5-1m1/管)， 直至漏出液中不含蛋白。
7. 测定各收集管中的蛋白含量，合并蛋白管。（注意：收集管中需事先加入约10-200u1的D液，防止抗体在过酸的环境下失活）
8. 柱子再生：用5-10倍体积的E液再生柱子。
9. PBS 透析收集的抗体。
10. 注意事项
11. 待纯化抗血清及试剂盒溶液根据体积大小需要回温1-3小时。
12. 根据柱子的结合能力考虑上样量的体积。
13. 将所纯化的抗体加入10%-20%的甘油置于-20摄氏度或者-80摄氏度即可长期保存。