

Biolinkedin® Protein A 抗体纯化试剂盒 (Magarose)

包装清单

名称	货号	包装
Protein A 抗体 纯化试剂盒 (Magarose)	AK-2101	盒

产品概述

Biolinkedin® Protein A 抗体纯化试剂盒 (Magarose) 是以 Protein A Plus 琼脂糖磁珠和优化预制的缓冲液以及 15mL 磁力架组成, 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

Protein A Plus 琼脂糖磁珠 (单品货号 : L-2101)	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
磁珠保存液	15 mL
蛋白快速染色液	50 mL
SDS-PAGE Sample Loading buffer (5×)	10 mL
磁力架	双排 4 孔 15 mL

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, 可以用**抗体结合缓冲液**对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用**抗体结合缓冲液**透析。样品在上样前建议离心或用 0.22µm 或 0.45µm 滤膜过滤, 减少杂质, 提高抗体纯化效率。

2. 磁珠准备

将 **Protein A Plus 琼脂糖磁珠** 混合均匀, 取一定量的磁珠悬浮液, 转移至离心管中, 放置在磁力架上, 磁性分离, 弃上清。然后添加 1~2 倍磁珠体积**抗体结合缓冲液**, 使用枪头反复吹打 5 次, 然后置于磁力架上, 磁性分离, 弃上清, 重复洗涤 1 次。

3. 抗体吸附

将上述预处理好磁珠与样品混合, 置于旋转混匀仪, 2~8°C 孵育 2~4h 或者过夜孵育。孵育后置于磁力架上, 磁性分离, 待溶液变澄清后, 吸取上清至新离心管, 上清保留作为流穿, 用于电泳鉴定。

4. 洗杂

向离心管中加入 5 倍磁珠体积的**抗体结合缓冲液**, 置于旋转混匀仪, 2~8°C 孵育 10~15min, 置于磁力架上, 磁性分离, 待溶液变澄清后, 吸取上清, 收集洗杂液。重复 2 次。

5. 抗体洗脱

在上述离心管中加入 2~3 倍磁珠体积的**抗体洗脱缓冲液**, 用移液器吹打 5 次, 然后在室温下置于旋转混合仪孵育 10min, 然后置于磁力架上, 磁性分离, 待溶液变澄清后, 吸取上清, 收集洗脱液, 即为目标抗体。

6. 中和洗脱液

向洗脱液中加入洗脱体积十分之一的**抗体中和缓冲液**, 调节 pH 值至 7.0~8.0。

7. 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) 磁珠清洗与保存

使用后的磁珠可用 2~3 倍磁珠体积的**抗体洗脱缓冲液**重悬磁珠, 然后置于磁力架上, 磁性分离, 待溶液变澄清后, 弃上清。重复 2 次。再加入 2~3 倍磁珠体积的**抗体结合缓冲液**, 悬浮磁珠, 然后置于磁力架上, 磁性分离, 待溶液变澄清后, 弃上清。重复 2 次。再加入同体积**磁珠保存液**, 置于 2~8°C 保存。

附表 1： Protein A 与不同来源及类型的抗体亲和性

Species	Antibody Subtype	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	+++
	IgG2c	+++++
	IgG2c	+++++
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

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. 请勿高速离心、干燥或冷冻磁珠，这些操作会导致磁珠聚集而降低结合能力。
3. 磁珠使用前应充分振荡均匀。磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
4. 本产品仅供科学研究使用。

相关产品

货号	产品名称
AK-2101	Protein A 抗体纯化试剂盒 (Magarose)
AK-2102	Protein G 抗体纯化试剂盒 (Magarose)
AK-2104	Protein A/G 抗体纯化试剂盒 (Magarose)