PurKine™ 蛋白 A/G 树脂（4%交联）

Cat #: BMR2070 Size: 2 mL/10 mL

	蛋白 A/G 树脂，4%琼脂糖凝胶		
REF	**货号：**BMR2070	LOT	**批号：**见产品标签
	载量：>10 mg IgG protein/mL		**微球粒径：**45-165 μm
	最大压力：0.1 MPa, 1 bar		**储存液：**含 20%乙醇的 PBS
	保质期：4℃保存 12 个月		

原理

蛋白质 A 和蛋白 G 是抗体纯化的常用选择，因为它们既稳定又有靶向性。来自多个物种的 IgG 类抗体与蛋白质 A 和/或蛋白 G 结合，使抗体被蛋白质-琼脂糖微球捕获。蛋白质 A 和 G 与 IgG 亚型的结合具有不同的亲和力，这取决于物种和重链的性质。PurKine™ 蛋白 A/G 树脂（4%交联）为抗体纯化提供了一种简单、快速、高效的方法。

试剂准备

用于配制缓冲液的水和化学试剂需要高纯度，缓冲液使用之前使用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。对于大多数蛋白质，可以使用以下推荐缓冲液：

Binding/Wash Buffer: 0.15 M NaCl, 20 mM Na_2HPO_4, pH 7.0

Elution Buffer: 0.1 M Glycine, pH 3.0

Neutralization Buffer: 1 M Tris-HCl, pH 8.5

样本制备

样品在上样前建议离心或 0.22 μm/0.45 μm 滤膜过滤，以防止堵塞柱子。如果样本太粘稠，可以用 Binding buffer 稀释，注意不要超过树脂的载量。为了确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，保持在最佳结合状态，必须用 Binding /Wash Buffer 至少 1:1 稀释血清样本、腹水或细胞培养上清液。或者使用 Binding/Wash Buffer 透析过夜。建议使用前用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤样品溶液。

实验步骤

1. 用适量的蛋白 A/G 树脂装柱，流干保护液。
2. 向柱中加入 2 倍柱体积 Binding buffer。平衡树脂，流干后，再重复 3 次。
3. 将处理好的蛋白提取物样本（蛋白提取物与等体积的 Binding buffer 混合制备样本）加入树脂中孵育。注意收集流穿液，可通过 SDS-PAGE 分析。

注意：为了最大限度结合，样本可在 4℃或室温与树脂孵育 30 min，注意不要超过树脂的载量。

4. 向柱中加入 2 倍柱体积 Wash Buffer，去除非特异性吸附蛋白。注意收集洗杂液用于 SDS-PAGE 检测分析，重复 6 次。
5. 向柱中加入 5-10 倍柱体积的 Elution Buffer 洗脱蛋白，或直至流出物 OD280 nm 稳定，收集洗脱液并立即用 Neutralization Buffer

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

中和至 pH 7.4（1/10 洗脱液体积）。

6. 检测和鉴定含有目标蛋白的组分。通过紫外分光光度计，SDS-PAGE 或 Western blotting。

柱子保存

用 2 倍柱体积的 Binding buffer 和 2 倍柱体积的去离子水依次清洗平衡柱，重复 2 次。然后加入 2 倍柱体积的 20%乙醇，重复 1 次。加入等体积含 20%乙醇的 PBS 作为贮存缓冲液，4℃保存，防止树脂被细菌污染。

在位清洗

一般情况下，树脂至少可以使用 5 次。当非特异性蛋白的增多和聚集导致流速和载量下降时，需要对树脂进行清洗。

去除沉淀或变性的蛋白质：

用 2 倍柱体积的 6 M 盐酸胍溶液洗柱。最后用 5 倍柱体积 PBS（pH 7.4）洗柱。

去除非特异性吸附蛋白：

用 3 倍柱体积的 70%乙醇或 1% Triton X-100 洗柱。最后用 5 倍柱体积 PBS（pH 7.4）洗柱。

常见问题

问题	原因	解决建议
反压过高	柱子被堵塞	在位清洗
	样品中有沉淀	通过 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤样品
没有抗体	目标抗体浓度很低	使用与树脂偶联的特异性抗原纯化抗体
	目标抗体对低 pH 洗脱缓冲液敏感	洗脱后立即用 Neutralization Buffer 中和
	IgG 亚型不能和树脂结合	尝试其他亲和层析介质纯化抗体

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTP2070	PurKine™ 抗体纯化试剂盒（蛋白 A/G）
KTP2001	PurKine™ 组氨酸标签蛋白纯化试剂盒（Ni-NTA 树脂）
KTP2010	PurKine™ 谷胱甘肽 S 转移酶标签蛋白纯化试剂盒（谷胱甘肽）
KTP2020	PurKine™ 麦芽糖结合蛋白标签蛋白纯化试剂盒（糊精）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.