

PurKine™ 抗体纯化试剂盒（蛋白 A/G）

Cat #: KTP2070

Size: 1 mL / 1 mL×5

	抗体纯化试剂盒（蛋白 A/G），优化的抗体纯化方案		
	货号：KTP2070		批号：见产品标签
	载量：>10 mg IgG protein/mL		微球粒径：45-165 μm
	保质期：4℃保存 12 个月		注意：打开后按照推荐的存储条件存放

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™ 抗体纯化试剂盒（蛋白 A/G）为抗体纯化提供了一种简单、快速、高效的方法。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	1 mL	1 mL×5	
PurKine™ Protein A/G Packed Column 4FF	1 mL	1 mL×5	4℃
Binding/Wash buffer (10×)	30 mL	100 mL+50 mL	4℃
Neutralization Buffer	15 mL	75 mL	4℃
Elution Buffer (10×)	15 mL	75 mL	4℃

自备耗材

- 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜
- 可调节式移液枪及枪头
- 去离子水
- 用于制备缓冲液的各种器皿

试剂准备

建议在使用之前通过 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤所有缓冲液。对于大多数蛋白质，建议使用以下缓冲液：

试剂	体积		
	Binding/Wash buffer (10×)	Elution buffer (10×)	Water (mL)

Binding/Wash buffer	6	0	54
Elution buffer	0	3	27

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/Wash 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。

蛋白纯化流程

1. 固定重力柱，去掉上端塞和下端塞，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°C 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 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。加入等体积分含 20%乙醇的 1×PBS 作为贮存缓冲液，4°C 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 1×PBS (pH7.4) 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 1×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
-------------	--------------

BMR2070	PurKine™ 蛋白 A/G 树脂（4%交联）
ABT2050	His 标签小鼠单克隆抗体（5C3）
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）
KTP2030	PurKine™ 生物素标签蛋白纯化试剂盒（链霉亲和素）
KTP2020	PurKine™ 麦芽糖结合蛋白标签蛋白纯化试剂盒（糊精）
KTP2140	PurKine™ 内毒素清除试剂盒（多粘菌素 B）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。