北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

小鼠 IgM 类单抗腹水纯化试剂盒使用说明书

在您使用本产品前请认真阅读说明书，这对您顺利完成实验很有帮助。

一、货号：GCC080202（50mL 纯化量）

二、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。

三、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。

四、适用范围：

本试剂盒适用于小鼠 IgM 类单克隆抗体腹水的纯化，不能用于 IgG 和 IgA 类单克隆抗体腹水的纯化实验，如需要可选择本公司其它货号的纯化试剂，它能为您带来良好的结果。

五、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	说明书	1 份

六、纯化步骤：

1、 从冰箱中取出试剂盒放置室温恢复温度 30 分，期间可将单克隆抗体腹水从冰箱中取出，室温避光复温 15 分钟，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 10 分钟。

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 1 毫升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） 1 毫升（必须精确），室温避光倒转 30 分。

4、 8000RPM 室温离心 10-20 分钟，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 1 毫升加入纯化液 C （加前确定没有试剂析出，如有析出摇晃溶解即可）1 毫升（（必须精确），室温避光倒转 10 分钟。

5、 8000RPM 室温离心 10-20 分钟，弃沉淀收集上清；每 1 毫升上清液加纯化液 D（加前确定没有试剂析出，如有析出摇晃溶解即可） 1 毫升（必须精确），室温避光倒转 20 分钟。

6、 8000RPM 室温离心 10-20 分钟，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 5 分钟，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（也可先溶解到 400ML，用时 20X 稀释），将要透析的抗体袋子放入。抗体体积：透析液体积=1:100，4℃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 10 分钟，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℃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 10 分钟，收集上清测蛋白浓度并调控在 5mg/ml 左右最后加 10/万 NaN3 防腐并除菌过滤-20℃备用。

七、 注意事项：

1、 溶血严重和腐败的腹水不得用于纯化。

2、 离心温度不要超过 37℃。

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。

6、由于单抗制备存在人工干预成分，现实中极其少数 IgM 细胞株抗体结构和性质会有突变，如果确认使用正确但没有得到合适抗体，建议换用 IgG 纯化试剂盒尝试。

特别提示：如果您在实验过程中遇到任何困难，请在第一时间联系我们技术团队获取支持。

