

## 蛋白 AG 抗体纯化试剂盒

名称：蛋白 AG 抗体纯化试剂盒

英文名称：PAG-agarose Antibody Purification Kit

目录号：QYP1055A (1ml)，QYP1055B (5ml)

保存条件：室温（15-25℃），4℃

保质期：1 年

包含试剂：

试剂盒组成	试剂盒组成英文名称	QYP1055A (1ml)	QYP1055B (5ml)
PAG-琼脂糖凝胶预装柱	PAG-agarose Column	1ml	1ml*5
抗体纯化平衡液	IgG Balance Buffer	20mL	100ml
抗体纯化洗涤液	IgG Wash Buffer	10ml	50ml
抗体纯化洗脱液	IgG Elution Buffer	10ml	50ml
抗体纯化中和液	IgG Neutralization Buffer	1ml	5ml

保存条件：PAG-琼脂糖凝胶预装柱 4℃ 保存，其他组分室温保存。

产品介绍：

蛋白 AG 抗体纯化试剂盒用于实验室的常规抗体纯化操作（单抗、多抗）。每根柱子可反复使用 9 次。含抗体（IgG）的样本（血清、腹水、细胞培养上清）流经 PAG-琼脂糖凝胶柱，样本中的 IgG 与 PAG-琼脂糖凝胶特异性结合，非 IgG 组分则不与柱子结合。样本经洗涤液洗涤除杂后，加入洗脱液洗脱 IgG，并用中和液调节 pH。本试剂盒内含 1 根(QYP1055A)，5 根(QYP1055B) PAG-琼脂糖凝胶柱，柱床体积为 1ml，可结合 10-20mg 人类 IgG 或 6-8mg 小鼠 IgG。

PAG-琼脂糖凝胶是重组蛋白 A 蛋白 G 融合蛋白（PAG）与琼脂糖凝胶微球（Agarose）偶联，制备的抗体纯化（亲和层析）介质。与单独的蛋白 A 或蛋白 G 琼脂糖凝胶相比，本品具有更宽广的结合范围，可以与人类、小鼠、大鼠、兔等多物种各亚型 IgG 结合。适用于抗体纯化，包括人类 IgG，小鼠 IgG，兔 IgG 单抗和多抗的纯化和检测。PAG-琼脂糖凝胶结构稳定，结合 IgG 效率高，对纯化体系 pH 值要求不严格，允许在 pH5.0-8.0 之间进行结合。

## 实验例

**实验名称：PAG-agarose 抗体纯化试剂盒纯化抗体**

### 试剂准备：

每 5-10ml 血清或腹水采用 1ml PAG-agarose 进行纯化。细胞上清中抗体浓度较低，建议盐析浓缩抗体，并使用 PBS 透析之后再进行过柱纯化。上柱之前，应尽可能使样本澄清。腹水中杂质较多，推荐在 10000g，4℃ 离心 20min，弃去沉淀。用滤纸过滤，再用 0.44um 滤器过滤，之后上柱。

如不过滤样本，直接上柱，样本中的杂质容易堵柱子，使实验时间延长，抗体纯度和产率降低。

## 实验方案

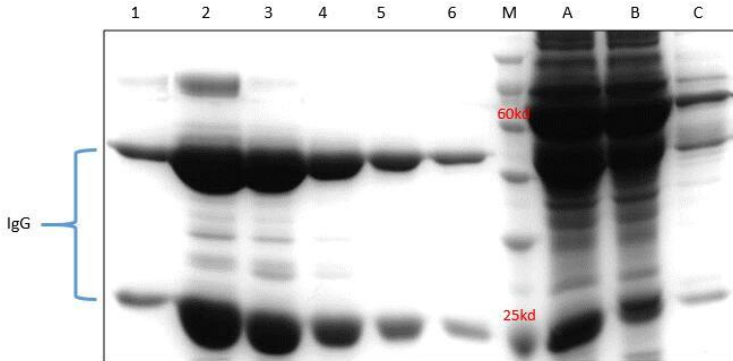
**以 10ml 血清使用 1ml PAG-agarose 柱子纯化为例**

1. 拔下 PAG-琼脂糖凝胶柱上下盖，弃去柱内液体。
2. 用 10ml 平衡液洗柱子。
3. 将预先处理过的血清上柱。用 50ml 离心管接住血清上柱流穿液，重复上柱，共上柱 3 次。
4. 用 10ml 洗涤液洗柱子。
5. 取 7 个 1.5ml 离心管，每管加入 100ul 中和液。
6. 加入 10ml 洗脱液洗脱抗体。将样本收集到上述 EP 管中，每管收集 900ul，总体积 1ml。
7. 洗脱液自然流出后，用 10ml 平衡液洗柱子。
8. 使用后的柱子应加入 20%乙醇/PBS，盖上上下盖，直立保存在 4℃。
9. 洗脱下来的抗体，立刻使用 PBS 在 4℃ 透析。如不立刻进行透析，需-20℃ 冻存。请勿将抗体存放于洗脱液中长期保存在 4℃。有部分抗体可能会产生沉淀。
10. 纯化好的抗体可用 BCA 蛋白定量试剂盒和 SDS-PAGE 电泳鉴定其浓度和纯度。

备注：应使用每根 PAG-agarose 柱子纯化一种抗体，每根柱子可反复使用 8-10 次。不建议使用同一根柱子纯化不同种类的抗体，以免抗体互相混淆，影响实验结果。通常情况下，10ml 小鼠腹水可获得 5-15mg 鼠单抗，10ml 兔血清可获得 10-20mg 兔多抗。不同种属和指标的抗体，其产率和浓度不同。

实验结果举例：

实验例 1：从小鼠腹水中纯化 GFP 鼠单抗



1-6. 洗脱管, 1ml/管

A. 腹水

B. 样本流穿

C. 洗涤液

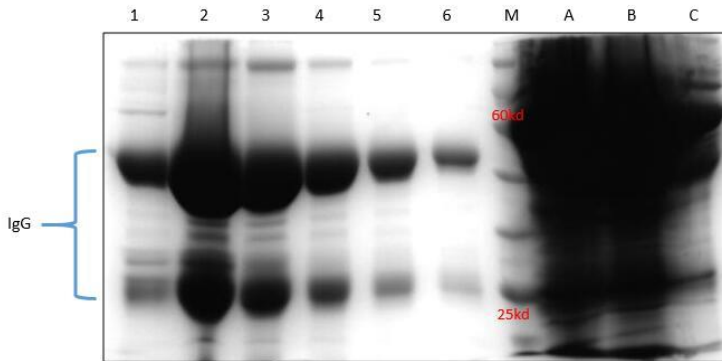
腹水用量: 5ml

PAG-agarose: 1ml

抗体浓度: 1.1mg/ml (6 管合一)

抗体产量: 6.6mg

实验例 2：从兔血清中纯化 HBEBP1 兔多抗



1-6. 洗脱管, 1ml/管

A. 血清

B. 样本流穿

C. 洗涤液

血清用量: 10ml

PAG-agarose: 1ml

抗体浓度: 2mg/ml (6 管合一)

抗体产量: 12mg