

小鼠 IgM 单克隆抗体腹水纯化试剂盒

产品货号: ATB06026

产品规格: 50ml

适用范围: 小鼠 IgM 单克隆抗体腹水

特别提示: 不适用 IgG、IgA 类单抗腹水

存储条件: 试剂盒建议避光保存于 4°C (或 2-8°C)。在未开启条件下, 保质期为 1 年。

产品简介:

本试剂盒基于不同蛋白在特定沉淀体系中的溶解度差异, 结合分步沉淀、复溶、透析及终处理流程, 对小鼠 IgM 腹水中的目标抗体进行富集与纯化。经条件优化后, 该流程兼顾了抗体活性保持、操作重复性与样品回收效率, 适合常规实验室开展 IgM 腹水纯化。

产品特点:

- 流程清晰, 常规离心条件下即可完成主要纯化步骤。
- 针对 IgM 腹水样本设计, 便于分步去除杂蛋白与脂类成分。
- 在规范操作前提下, 所得抗体纯度通常可达到 90% 以上。
- 体系较为温和, 有利于保留抗体天然活性, 便于后续实验应用。

产品组份:

名称	数量	名称	数量
纯化液 A	50 mL	纯化液 E	5 mL
纯化液 B	50 mL	透析试剂 (浓缩液或固体)	配制 8 L
纯化液 C	50 mL	透析袋	4 份
纯化液 D	50 mL	说明书	1 份

关键操作提醒:

纯化液 A、C、D 使用前如发现轻微析出, 可摇匀至完全溶解后再使用; 各步骤中的体积比需尽量精确; 除特别说明外, 均按室温、避光条件进行。

操作流程:

- 1. 样品与试剂复温:** 将试剂盒从 4°C 取出, 在室温放置约 30 分钟。可同时取出腹水样品, 在避光条件下于室温放置约 15 分钟; 样品如已冻结, 可在流动自来水下边轻摇边快速融解。
- 2. 首次澄清离心:** 将融解后的单克隆抗体腹水以 8000-12000 rpm、室温离心 10 分钟。
- 3. 加入纯化液 A:** 弃去最上层浮沫及油脂, 将上清转移至洁净离心管或容器中。按每 1 mL 腹水加入 1 mL 纯化液 A 的比例处理, 轻轻倒转混匀后, 室温避光放置 30 分钟。
- 4. 沉淀复溶并加入纯化液 C:** 以 8000 rpm、室温离心 10-20 分钟。收集沉淀, 并用纯化液 B 将其溶解至原始腹水体积的 1/2。随后按当前体积每 1 mL 加入 1 mL 纯化液 C, 倒转混匀后室温避光放置 10 分钟。

- 5. 收集上清并加入纯化液 D:** 再以 8000 rpm、室温离心 10-20 分钟, 弃沉淀、保留上清。按每 1 mL 上清加入 1 mL 纯化液 D, 倒转混匀后室温避光放置 20 分钟。
- 6. 沉淀复溶与透析:** 以 8000 rpm、室温离心 10-20 分钟后收集沉淀, 用纯化液 B 缓慢复溶, 终体积控制为原始腹水体积的 1/3。透析袋先用纯水浸泡 5 分钟, 再轻捏数次并用纯水冲洗干净后装样封口。透析液可直接用纯水配制至 8 L; 若先配成 400 mL 浓缩液, 使用时按 20× 稀释。按抗体体积 : 透析液体积 = 1 : 100 的比例, 于 4°C 透析过夜。透析完成后取回抗体。
- 7. 加入纯化液 E:** 按透析后抗体体积 : 纯化液 E 体积 = 9 : 1 的比例加入纯化液 E, 混匀后静置 5 分钟, 再以 8000 rpm、室温离心 10 分钟。弃去沉淀, 保留上清, 即为纯化后的抗体。
- 8. 缓冲液置换与终处理:** 将纯化抗体换入后续实验所需缓冲液。建议按抗体体积 : 透析液体积不低于 1 : 50, 于 4°C 透析, 并在过程中换液 3 次; 总透析时间不宜超过 24 小时。随后以 8000 rpm、室温离心 10 分钟, 取上清测定蛋白浓度, 并调整至约 5 mg/mL。最后加入 1/100000 体积的 NaN₃ 作为防腐剂, 完成除菌过滤后于 -20°C 保存备用。

结果判定建议: 纯化结束后, 建议对抗体进行蛋白定量, 并结合 SDS-PAGE、ELISA 或其他下游验证方法评估纯度与活性。

注意事项:

- 严重溶血或已明显腐败的腹水样本不建议用于本流程。
- 离心操作温度不宜高于 37°C。
- 各步加样与量取请尽量准确, 否则可能影响最终纯度和回收效果。
- 若透析过程中不进行搅动, 每次静置透析时间建议不少于 4 小时。
- 如认为常规透析效率偏低, 可根据实验条件改用超滤管进行缓冲液置换。
- 由于部分单抗制备过程存在人工筛选与培养因素, 少数 IgM 细胞株所得抗体的结构或理化性质可能出现差异。若确认操作无误但纯化效果仍不理想, 可尝试改用其他更适配的纯化方案。

技术提示: 实验过程中如出现异常沉淀、样品损失明显或纯度偏低等情况, 建议及时结合样品状态、离心条件和透析参数进行排查。

*本试剂仅供实验室研究使用