

从免疫血清纯化抗体

1. 剪取一小条 0.45 μm 的硝酸纤维膜，置于 1.5ml eppendorf 管中，浸没于 1 ml 1 mg/ml 的抗原溶液中，5 min。
2. 取出膜，置于滤纸上干燥。
3. 将膜放置于装有 1 ml Buffer A 的 eppendorf 管，轻轻震荡混匀 30 min。
4. 移去 Buffer A，用新鲜的 Buffer A 洗一次，将膜浸没于 0.8-1 ml 相应的抗血清中，1-2 h，于混匀器上轻轻震荡混匀。
5. 移去血清，用 PBS 洗膜，4 次，每次 5 min。
6. 洗脱抗体
新配置 100 mM 甘氨酸(pH 2.5)抗体洗脱液，将膜置于洗液中，手轻摇混匀 2 min，迅速将洗液转移至装有 100 μl 1 M Tris (pH 8.0) 中和，使抗体复性。第 1 次洗脱用 400 μl 抗体洗脱液，第 2, 3 次用 200 μl 。
7. 往洗脱下来的液体中加入 100 μl Buffer A 以稳定抗体，并分装成 30 μl 每管，于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

注：所有步骤均在室温完成。

Buffer A: 5% BSA, 10 mM Tris, 0.15 M NaCl, 0.2% NP-40, pH 7.4