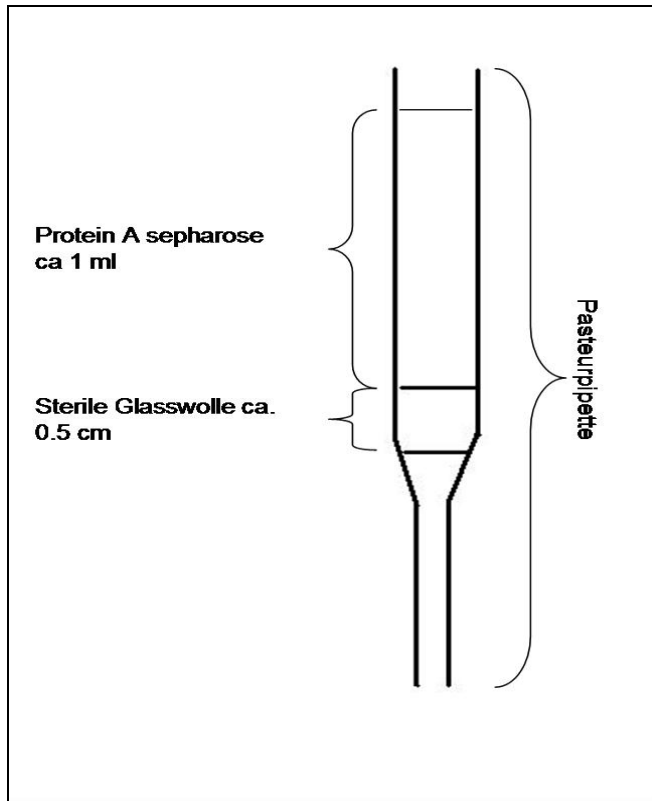


Preparation der IgG – Fraktion aus einem Antiserum

Als Säule eignet sich am besten eine Pasteur-Pipette (kurz). Sterile Glaswolle ca. 0.5 cm hoch in die Pipette stopfen, um das Herauslaufen der Protein A Sepharose zu verhindern.

Aufbau der Säule:



Protein A Sepharose, muss wie vom Hersteller angegeben vor dem Beladen auf der Säule behandelt werden (waschen usw). Produktinformationen lesen!!!

Waschen der Protein A – Sepharose – Säule (ca. 1 ml) mit:

- 2 M Harnstoff (10 ml)
- 100 mM Glycin/HCl pH 3.0 (10 ml)

dann mit 10 ml 100 mM Tris/HCl pH 8.0 äquilibrieren

1. Serum pH durch Zugabe von 1/10 Volumen 1 M Tris/HCl pH 8.0 einstellen
2. Serum auf die Säule applizieren (maximal 1,5 ml maximum)
3. waschen mit: 10 ml 100 mM Tris/HCL pH 8,0
10 ml 10 mM Tris/HCL pH 8,0
4. Eluieren mit:
 - 12 X 500 µl 100 mM Glycine/HCL pH 3,0
 - Das Eluat in 500 µl Fraktionen in Eppendorfgefäßen sammeln, in denen jeweils 50 µl 1 M Tris/HCL pH 8,0 vorgelegt wurde
4. Die IgG – haltigen Fraktionencontaining durch OD₂₈₀ identifizieren und poolen (1 OD₂₈₀ = 0,8 mg/ml IgG)