

Anti-His (HHHHHH) 免疫磁珠

Catalog Number: EA-IP-008M

Note: 请勿离心，轻柔混匀后使用。

性能指标

应用范围

应用于带有His 标签的融合蛋白或其蛋白复合物的免疫沉淀。

His 标签可以位于蛋白的N 端，C 端或中间，如N 端His 融合蛋白（His-Protein）、C 端His 融合蛋白（Protein-His）和Met 修饰的N 端His 融合蛋白（Met-His-Protein）。

抗体属性

His-Tag Mouse mAb：小鼠IgG。

凝胶属性

磁珠，平均粒径3 μm。

凝胶载量

1mL 磁珠悬液，含20mg 磁珠，共价偶联约 1 mg Anti-His 小鼠单克隆抗体。

主要成分

1mL Anti-His 免疫磁珠，可沉淀 1~2 mg His 融合蛋白。

0.25mL Anti-His 免疫磁珠，保存于0.75mL 含防腐剂的PBS 中。

注意事项

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品以悬液形式提供亲和磁珠，使用前先温和重悬磁珠悬液，然后按照需求取用。
4. 勿离心、冷冻、干燥磁珠，勿使用超声处理磁珠，勿使酸处理磁珠时间超过 10min。
5. 混匀磁珠时，请采用移液枪轻柔吹打，柔和涡旋，上下颠倒及摇床混匀等方法。勿使用超声等方法。
6. 配套使用的相关试剂，需实验室自备。

使用方法

1. 目标蛋白样品制备

1) 血清及分泌表达目标蛋白样品处理

收集血清或培养基上清，检测目标蛋白浓度。如果目标蛋白质浓度较高，建议用 $1 \times \text{PBS}$ 稀释至蛋白质终浓度为 $10 \sim 100 \mu\text{g/mL}$ ，以备后续实验。

2) 细胞内表达目标蛋白样品处理

- a. 将悬浮细胞或贴壁细胞从细胞培养瓶上吹下来后转入离心管中，1000rpm 离心5min，弃上清。
- b. 用预冷至4℃的 $1 \times \text{PBS}$ 重悬细胞，1000rpm 离心3min，弃上清。重复1次。
- c. 根据细胞的量加入相应体积的细胞裂解液，反复吹打后冰上放置 10~20min。

注：一般 1mL 细胞裂解液可以处理约 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞。为了避免目标蛋白质降解，您可以添加蛋白酶抑制剂（PMSF 工作浓度：0.1~1.0mmol/L）。

- d. 用超声破碎仪处理细胞裂解液，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。冰上放置30min 之后，12000rpm，4℃离心 10min。取上清，可立即进行下一步实验或置于-80℃冻存。

注：若无超声破碎仪，也可使用削成斜口的枪头或注射器反复吹吸，直至细胞裂解液透明，不再粘稠。

2. 装柱及孵育

1) Anti-His 免疫磁珠准备

- a. 温和重悬Anti-His 免疫磁珠，混合均匀，取40μL 磁珠悬液（约含 10μL 磁珠）至离心管中。
- b. 加入500μL 的 $1 \times \text{PBS}$ 轻柔重悬清洗磁珠，磁力架上静置 10 sec 后，弃上清，重复上述步骤2次。

注：多个样品时，可将磁珠重悬后分装到数个反应管中分别进行反应。

2) 目的蛋白与Anti-His 免疫磁珠的结合

- a. 孵育：清洗后的磁珠中加入 500μL 准备好的样本，摇床上室温孵育2h，也可4℃孵育过夜或更长时间。
- b. 清洗：孵育完毕后，磁性分离，弃上清。加入500μL $1 \times \text{PBST}$ ，温和混匀，清洗磁珠，磁性分离，弃上清。重复3次。
- c. 加入20μL $1 \times \text{PBS}$ 和5μL 5×上样缓冲液，煮沸5min，冷却至室温并离心。
- d. 取上清进行SDS-PAGE 实验，以备后续的Western Blotting 检测。

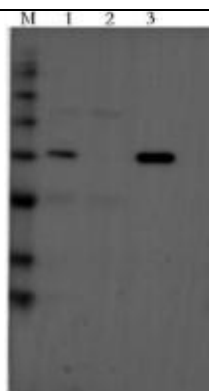


图 1 Anti-His (HHHHHH) 免疫磁珠免疫沉淀效果图。泳道 M：Marker；泳道 1：实验组；泳道 2：阴性对照组；泳道 3：Input 组。

背景信息

Anti-His 免疫磁珠由高质量的His 标签抗体与磁珠共价偶联而成，可特异性地与样品中含有His 标签的蛋白结合，从而用于带有His 标签的融合蛋白或蛋白复合物的免疫沉淀、免疫（共）沉淀等实验。

储存方法

4℃可保存 12 个月。