

## His Tag 免疫沉淀磁珠

### His Tag Immunomagnetic Beads

#### 产品描述

TargetMol 的 His Tag 免疫沉淀磁珠可特异性地与带有 His 标签的蛋白结合, 可以用于蛋白质、蛋白质复合物、蛋白质核酸复合物和其他抗原的免疫沉淀 (IP)。本品适用于细胞裂解物、细胞分泌上清、血清、腹水等来源的抗原样品。

#### 产品特点

- 非特异性吸附低
- 操作灵活、简便
- 高效率、高产量、低消耗
- 实验结果可靠、重复性高

#### 产品信息

His Tag免疫沉淀磁珠	
基质	硅基磁珠
粒径	200 nm
磁珠浓度	10 mg/mL
结合能力	≥ 0.5 mg His标签蛋白/mL 磁珠
配体	鼠源抗His单克隆抗体
应用推荐	IP, Co-IP

#### 操作说明

##### 自备试剂

试剂	可选配方
洗涤缓冲液 Washing Buffer (1×)	TBST: 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1%(v/v) Tween-20, pH7.4
His多肽洗脱缓冲液 His Peptide Elution Buffer	PBS, 1 mg/mL 6×His peptide (TP1280), pH 7.4
酸性洗脱缓冲液 Acidity Elution Buffer	0.1M Glycine, 0.1% (v/v) Tween-20, pH2.5
中和缓冲液 Neutralization Buffer	1 M Tris-HCl, pH 9.0

## 1. 细胞裂解液制备

选择合适的裂解液处理细胞样品, 按照标准步骤制备细胞裂解液, 置于冰上备用, 或于 -20 °C 长期保存。

## 2. 磁珠预处理

- 1) 将免疫沉淀磁珠用漩涡振荡器振荡 1 min, 使磁珠重新悬浮, 取 25~50  $\mu$ L 磁珠悬液放入 1.5 mL EP 管中。
- 2) 向 EP 管中加入 500  $\mu$ L Washing Buffer 进行洗涤, 温和翻转 EP 管数次, 使磁珠重新悬浮。将 EP 管放入磁性分离器, 静置 1 min, 进行磁性分离, 吸去上清液, 取下 EP 管。重复上述洗涤步骤 2 次。

## 3. 免疫沉淀步骤

- 1) 向 EP 管中加入 500  $\mu$ L 制备好的细胞裂解液, 将 EP 管放在旋转混合仪上, 在 37 °C 下旋转混合 30 min。如结合力较弱, 可在室温下孵育 1 h, 或在 4 °C 下孵育过夜。
- 2) 孵育结束后, 进行磁性分离, 弃去或保存上清以供后续分析。
- 3) 向 EP 管中加入 500  $\mu$ L Washing Buffer 进行洗涤。进行磁性分离, 吸去上清液, 取下 EP 管, 重复洗涤磁珠 3 次。

## 4. 抗原洗脱

提供以下几种抗原洗脱方案, 用户可根据后续检测的需要选择不同的洗脱方法。

- 1) 变性洗脱法: 此方法洗脱的样品适用于 SDS-PAGE 检测。向 EP 管中加入 100  $\mu$ L SDS-PAGE Loading Buffer (自备), 混合均匀, 95 °C 加热 5 min。然后进行磁性分离或者离心 (室温, 13000 g, 10 min), 收集上清液, 进行 SDS-PAGE 检测。
- 2) 中性洗脱法: 向 EP 管中加入 50  $\mu$ L His Peptide Elution Buffer, 置于旋转混合仪上在 37 °C 孵育 5-10 min (低于 37 °C 时需适当延长孵育时间)。然后进行磁性分离或者离心, 收集上清液。为提高抗原回收率, 可重复以上步骤。
- 3) 酸性洗脱法: 向 EP 管中加入 100  $\mu$ L Acidity Elution Buffer, 置于旋转混合仪上在 37 °C 孵育 5-10 min。然后进行磁性分离或者离心, 收集上清液。如需中和酸性洗脱液, 可向 100  $\mu$ L 洗脱液中加入 50  $\mu$ L Neutralization Buffer, 调整 pH 至中性。

## 保存条件

4 °C 2 年

## 注意事项

1. 避免冷冻磁珠。磁珠应保存在储存溶液中, 防止干燥。
2. 为了减少磁珠的损失, 每次磁性分离的时间不应少于 1 min。
3. 在从磁珠保存管中取出磁珠之前, 应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
4. 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管, 以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
5. 操作者可根据实际需求, 利用抗体结合反应步骤和抗原结合反应步骤中收集的上清液, 检测抗体、抗原与磁珠的结合情况。
6. 在 IP 实验中, 不同类型的抗体和抗原结合的亲和力会有所不同。如果使用本说明书推荐的缓冲体系未能获得理想的实验结果, 操作者可以自行筛选和配制缓冲液进行实验。
7. 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, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

