

## His 琼脂糖凝胶

名称：His 琼脂糖凝胶

英文名称：His-probe antibody agarose, His-agarose

目录号：QYA04393AAC

规格：1ml (His-tag antibody 500ug, agarose 250ul, 保护液 750ul)

### 产品介绍

His 琼脂糖凝胶是 His-tag antibody (QYA04393A) 与琼脂糖凝胶微球 (Agarose) 偶联，制备的蛋白纯化介质。专门用于纯化和检测细胞裂解液或菌体裂解液中的 His-标签蛋白。适用于 IP 实验。当细胞或菌体裂解液与本品混合，His 标签蛋白与凝胶特异性结合，其他蛋白不结合。本品结构稳定，结合 His 标签蛋白效率高，对纯化体系 pH 值要求不严格，允许在 pH5.0-8.0 之间进行结合。

### 产品性能

性能	指标
基质	6%琼脂糖微球
配基	Mouse monoclonal anti His-tag antibody
配基密度	2mg his-tag antibody/ml 琼脂糖微球
载量	>1mg/ml his 标签蛋白
粒径	45-165 $\mu$ m
推荐流速/最大流速	100/750 cm/h
pH 稳定范围-工作/清洗	3~9/2~10
储存缓冲液	PBS, 0.01% NaN <sub>3</sub>
储存温度	4°C
保质期	1 年

## IP 实验流程

### 试剂及耗材准备

IP 缓冲液：PBS, pH7.4

洗脱缓冲液：100mM Glycine, pH2.7

中和缓冲液：1M Tris-HCl, pH9.0

### 实验方案

本实验方案使用 50ul His-琼脂糖凝胶（200ul His-琼脂糖凝胶混悬液），可结合至少 100ug His 标签蛋白。

具体操作中，可根据蛋白的表达量，调整所使用的 His-琼脂糖凝胶、IP 缓冲液、洗脱缓冲液、中和缓冲液体积。

#### A.His-标签蛋白免疫沉淀

1. 在离心管中加入 200ul His-琼脂糖凝胶混悬液，3000g，4℃离心 5min，弃上清。
2. 向 His-琼脂糖凝胶中加入 0.5ml IP 缓冲液，用上述条件离心，弃上清。重复 2 次。
3. 将 200-1000ul 细胞裂解液加入 His-琼脂糖凝胶中。室温旋转孵育 2h，或 4℃旋转孵育过夜。
4. 将孵育好的免疫复合物-凝胶用上述条件离心，弃上清。
5. 加入 1ml IP 缓冲液，用上述条件离心，弃上清。重复 3 次。

#### B.His-标签蛋白洗脱

若洗脱的 His-标签蛋白需要进行蛋白功能试验，使用方案 1。若需要进行电泳、WB，使用方案 2。

##### 方案 1:

1. 加入 50ul 洗脱缓冲液，室温孵育 5min。
2. 用上述条件离心，收集上清。重复 1 次。
3. 合并两次离心收集的上清，加入 10ul 中和缓冲液，将 pH 调整至 7.0 左右。
4. 将目的蛋白进行透析、脱盐，以供其他试验使用。

##### 方案 2:

1. 向琼脂糖凝胶-免疫复合物中加入蛋白上样缓冲液，95℃加热 5min。
2. 用上述条件离心，小心将上清转移到新 EP 管中。
3. SDS-PAGE 电泳检测目的蛋白。