

## His Pulldown 试剂盒

### 产品描述

Biolinkedin<sup>®</sup> His Pulldown 试剂盒产品能高效捕获和纯化与 His-tag 融合蛋白相互作用的蛋白实验，无需离心。试剂盒中提供 HIS 琼脂糖磁珠和磁力架以实现快速便捷的蛋白磁性分离，以及优化配套的缓冲液。

与基于琼脂糖材料相比，His 琼脂糖磁珠进行了优化，能够更高效，更特异性与 His-tag 融合蛋白进行结合，具有较低的蛋白非特异吸附率，洗脱条件更均一，可大幅度缩短实验操作所需的时间。

本产品主要应用于体外表达纯化蛋白后，研究蛋白之间相互作用等相关研究。

### 产品信息

|                                     |                |
|-------------------------------------|----------------|
| His 琼脂糖磁珠                           | 5 mL (20% V/V) |
| PMSF(100×)                          | 1 mL           |
| Pull-down Buffer                    | 100 mL         |
| Washing Buffer                      | 100 mL         |
| 蛋白快速染色液                             | 50 mL          |
| SDS-PAGE Sample Loading buffer (5×) | 10 mL          |
| 磁力架                                 | 双排 16 孔磁力架     |

### 产品优势

1. 具有高效的蛋白结合能力
2. 超低非特异性吸附的性能。
3. 配合磁力架操作省时、简便、温和
4. 产品稳定性高。

### 操作流程

#### 1. 磁珠准备

将 Biolinkedin<sup>®</sup> His 琼脂糖磁珠混匀，取 50 $\mu$ L 的磁珠悬浮液，转移至离心管中，放置在磁力架上，磁性分离后弃上清。然后添加 500 $\mu$ L Pull-down buffer，混匀后，然后置于磁力架上，磁性分离后弃上清。（磁珠加入量根据实验要求酌情而定）

#### 2. 样品准备

取 1.5mL 离心管，加入适量的 His-Tag 融合蛋白、待测相互作用蛋白、与上述预处理好 His 琼脂糖磁珠进行混合，同时按比例加入 PMSF，并补充 Pull-down buffer 至总体积 500 $\mu$ L。

**注意：**请确保 His-Tag 融合蛋白和待测相互作用蛋白样品已经过纯化

#### 3. 蛋白结合

将上述混合物，置于翻转混匀仪孵育，4 $^{\circ}$ C、2-8h 或过夜，然后置于磁力架上，磁性分离后弃上清。

#### 4. 洗杂

向离心管中加入 500 $\mu$ L Washing Buffer，置于翻转混匀仪孵育 5-10min，然后置于磁力架上，磁性分离后弃上清。重复 3-5 次。

**(根据结合强度和背景情况增加或减少洗涤次数)**

#### 5. 蛋白检测

在上述离心管中加入 50-100 $\mu$ L SDS-PAGE Sample Loading Buffer (1 $\times$ )，将样品置于 100 $^{\circ}$ C 水浴或者金属浴中加热 10 min。通过磁力架分离磁珠，保留含有目的抗原的上清。之后可通过 Western blot 进行检测或样品保存于 -80 $^{\circ}$ C。

#### 可选步骤：

SDS-PAGE 检测：将跑好的 PAGE 胶取下放入塑料器皿中，加入适量蛋白快速染色液覆盖 PAGE 胶，然后置于摇床上摇动，染色时间 0.5h-2h 或过夜均可。染色结束后，PAGE 胶放置于水中保存并拍照。

#### 注意事项

1. 进行实验操作之前，请务必认真阅读本操作说明书。
2. 磁珠使用前应充分振荡均匀。
3. 磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
4. 请勿将磁珠冷冻或离心，以免引起不可逆聚集。
5. 本产品仅供研究使用。