



His/IgG Fc 探针-HRP

产品编号: 3090

His-探针-HRP 是 Ni²⁺活化的 HRP, 可以直接检测带有多聚组氨酸标签的重组融合蛋白或其它富含组氨酸的蛋白, 也能够结合 IgG 抗体的 Fc 段。在高浓度促溶剂如 8M 尿素或 6M 盐酸胍不影响结合。

规格

本产品包装规格为 0.1ml

运输、储存和有效期

冷藏运输, -20°C 储存, 在有效期内使用。正常储存条件下自生产之日起有效期至少 2 年。如果不能短时间用完, 请进行分装。避免反复冻融。

注意事项

为减少开盖损失, 开盖前请在离心机离心数秒钟, 以使盖上的液体沉到管底。

使用方法

ELISA 方法检测含多聚组氨酸蛋白

材料

1. 包被缓冲液: 0.1M 碳酸盐, pH9.6
2. 洗涤液: 0.1M PB, 0.15M NaCl, pH7.2, 含 0.05%吐温-20
3. 封闭缓冲液: 0.1M PB, 0.15M NaCl, pH7.2, 含 1%BSA
4. His 探针-HRP 工作液: 将 His 探针-HRP 浓缩液在洗涤液中 1:1000 稀释
5. 0.5M HCl, H₂SO₄ 或 1MH₃PO₄

操作步骤

1. 用包被缓冲液稀释含组氨酸蛋白 5-20μg/mL, 每孔 100μL 4°C 过夜或室温 2 小时
2. 用洗涤液每孔 200μL, 洗涤 3 次
3. 每孔 200μL 封闭缓冲液, 37°C 孵育 30 分钟
4. 用洗涤液每孔 200μL, 洗涤 3 次
5. 加 His 探针-HRP 工作液, 每孔 100μL, 室温孵育 30 分钟
6. 用洗涤液每孔 200μL, 洗涤 3 次
7. 每孔加 TMB 显色液 100μL
8. 每孔加 50μL 终止液 0.5M HCl, H₂SO₄ 或 1MH₃PO₄

WB 方法检测含多聚组氨酸蛋白

材料



1. 洗涤液 (TBST): 0.025M Tris-HCl, 0.15M NaCl, pH7.2, 含 0.05%吐温-20
2. 封闭缓冲液: 0.025M Tris-HCl, 0.15M NaCl, pH7.2, 含 1%BSA
3. His 探针-HRP 工作液: 将 His 探针-HRP 浓缩液在封闭缓冲液中 1:5000 稀释
4. 含转移蛋白的硝酸纤维素膜
5. TMB (沉淀性) (根据需要可以使用化学发光液)

操作步骤

1. $7.5 \times 10\text{cm}^2$ 膜置于染色盒中, 加 10ml 封闭液, 室温封闭 1 小时
2. 用洗涤液 TBST 15ml, 振荡洗涤 10 分钟, 洗涤 2 次
3. 加 His 探针-HRP 工作液 10mL, 室温振荡孵育 1 小时
4. 用洗涤液 TBST 15ml, 振荡洗涤 10 分钟, 洗涤 2 次
5. 加 10ml TMB 显色液 (沉淀性) 室温孵育 5-30 分钟

注意事项

1. 偶而蛋白质的折叠可能遮盖 His 标签影响检测, 用 3M 硫氰酸盐处理可使 His 暴露。
2. 许多溶质包括非离子表面活性剂、尿素、乙二醇和二甲基亚砷不干扰反应,
3. 避免使用 EDTA、咪唑和还原剂如二巯基乙醇, 会影响探针与 His 标签结合。
4. 稀释液中避免使用叠氮钠, 叠氮钠可抑制 HRP 活性。