

【百欧泰生物】特异性结合：小鼠抗 His 标签单克隆抗体

小鼠抗 His 标签单克隆抗体是生命科学研究领域的关键工具。它由小鼠免疫系统产生，能精准识别并特异性结合 His 标签，该标签常融合于目标蛋白用于追踪、纯化。制备时，通过向小鼠注射含 His 标签的抗原，取其脾细胞与骨髓瘤细胞融合筛选得到。此抗体适用于 ELISA、Western blot、免疫沉淀、免疫细胞化学、流式细胞术等。

产品详情

产品货号	BMA-043
亚型	IgG
应用	WB; ELISA
形态	Liquid
浓度	1mg/ml
缓冲液	0.01M TBS (pH7.4) with 1% BSA, 0.03% Proclin300 and 50% Glycerol
纯化	Protein G

实验流程

1. 抗原制备

1.1 合成 His 多肽：人工合成 6*His 多肽，即氨基酸序列为“hhhhhh”的多肽，必要时在末端添加偶联载体用到的特殊氨基酸。

1.2 偶联载体蛋白：称取 4.4g His-tag 和 5g 卵清白蛋白（OVA）或牛血清白蛋白（BSA）溶于 1L 0.05mol/L、pH7.0 的 PBS 中，充分溶解后，将 200 μL 含有 2.2g 碳化二亚胺（EDC）的 PBS 溶液逐滴加入，边滴入边混匀，摇床 100r/min 反应 4h，4℃ 静置过夜，再用 0.01mol/L、pH7.0 PBS 透析 72h，存储于 -20℃ 备用。

2. 小鼠免疫

2.1 选择实验小鼠：选取 6-8 周龄、体重 18-22g 的 Balb/c 纯系雄性小鼠。

2.2 免疫注射：初次免疫时，将偶联好的全抗原与等量弗氏完全佐剂混合乳化，按 20-30 μg/

只的剂量，采用皮下多点注射或腹腔注射的方式免疫小鼠。之后每隔 14 天用全抗原与弗氏不完全佐剂混合乳化后加强免疫，剂量与初次免疫相同。

2.3 血清效价检测：末次免疫后 3-5 天，眼眶采血，分离血清，用间接 ELISA 法检测血清效价，当效价达到 1:10000 以上时，可进行细胞融合。

3. 细胞融合

3.1 准备细胞：处死免疫好的小鼠，无菌条件下取出脾脏，制备脾细胞悬液。同时，培养对数生长期的骨髓瘤细胞。

3.2 细胞混合：将脾细胞与骨髓瘤细胞按 5:1-10:1 的比例混合，放入 50mL 离心管中，1200r/min 离心 5min，弃上清。

3.3 诱导融合：向离心管中缓慢加入预热至 37℃ 的 50% 聚乙二醇（PEG）溶液 1mL，边加边轻轻搅拌，作用 1-2min 后，再缓慢加入无血清培养基 9mL，以终止 PEG 的作用，1200r/min 离心 5min，弃上清。

4. 选择性培养

4.1 制备培养基：将融合后的细胞重悬于 HAT 选择性培养基中，接种到 96 孔细胞培养板中，每孔加 200 μ L，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。

4.2 筛选细胞：在 HAT 培养基中培养 10-14 天，未融合的骨髓瘤细胞和脾细胞会逐渐死亡，只有融合成功的杂交瘤细胞能够生长。

5. 杂交瘤阳性克隆的筛选与克隆化

5.1 筛选阳性克隆：采用间接 ELISA 法，以 His-tag-BSA 作为包被抗原，对培养孔中的杂交瘤细胞上清进行检测，筛选出能产生抗 His 标签抗体的阳性克隆。

5.2 克隆化培养：对筛选出的阳性克隆采用有限稀释法进行克隆化，将阳性杂交瘤细胞稀释到每孔 0.5-1 个细胞，接种到 96 孔板中，继续培养，待细胞长满孔底后，取上清再次进行 ELISA 检测，筛选出稳定分泌高特异性抗体的单克隆细胞株。

6. 单克隆抗体的大量制备

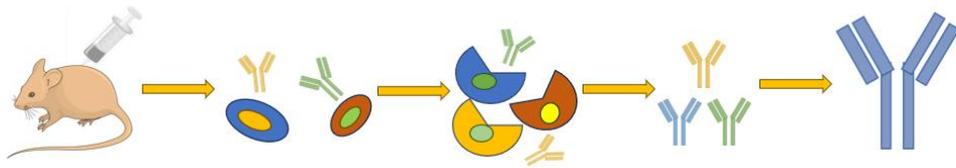
6.1 体外培养法：将筛选出的阳性杂交瘤细胞株扩大培养，采用生物反应器或细胞培养瓶等进行大规模培养，收集培养上清液，通过离心、过滤等方法去除细胞碎片和杂质，得到含有单克隆抗体的培养液。

6.2 体内诱生腹水法：向 BALB/c 小鼠腹腔内注射 0.5mL 液体石蜡或降植烷，7-10 天后，将阳性杂交瘤细胞以 1×10^6 - 5×10^6 个/只的剂量接种到小鼠腹腔中。待小鼠腹部明显膨大后，抽取腹水，4℃、3000r/min 离心 10min，收集上清液。

7. 抗体纯化与鉴定

纯化：亲和层析法等进行纯化，得到纯化的单克隆抗体。

鉴定：采用 SDS-PAGE 电泳检测抗体的纯度和分子量大小；用间接 ELISA 法检测抗体的效价；通过 Western blot、免疫细胞化学等方法鉴定抗体的特异性。



产品优势

1. 特异性强

精准识别：特异性地结合 His 标签，对其他无关蛋白基本无交叉反应。

减少干扰：准确捕获和鉴定目标蛋白，降低假阳性概率。

2. 灵敏度高

微量检测：可检测低至 1-2 ng 的 His 标签融合蛋白。

信号清晰：与目标蛋白结合后，能产生强烈的信号。

3. 适应性强：适应多样条件：在不同的实验条件下，仍能保持较好的亲和力。

4. 应用范围广：适用于 ELISA、Western blot、免疫沉淀、免疫细胞化学、流式细胞术等

5. 多物种样本兼容：可用于检测细菌、酵母、昆虫细胞、哺乳动物细胞等多种表达系统表达的 His 标签融合蛋白，不受样本来源的限制。

6. 技术成熟：同批次间的差异较小，实验结果重复性好。

本篇文章对科研爱好者有一定参考价值。但它不能替代专业领域更详尽、精准且深入的专业知识体系，也不等同于实际实验操作流程。若阅读时发现侵权或争议内容，请立即联系作者删除，以保文章合法性与合规性，维护良好科研交流环境。