

ProteinIso® Ni-NTA Resin

使用前请仔细阅读说明书

目录号: DP101

版本号: Version1.1

保存: 2-8°C (20% 乙醇)保存两年。

产品说明

ProteinIso® Ni-NTA Resin是螯合金属 Ni^{2+} 而形成的一种亲和层析介质。NTA能够通过四个位点牢固地螯合 Ni^{2+} ，从而减少纯化过程中 Ni^{2+} 泄漏到蛋白样品中。本产品对His标签蛋白具有特异吸附能力，从而使His标签蛋白结合在Ni-NTA纯化介质上，未结合的蛋白被洗涤下去。结合在介质上的蛋白经过一定浓度的咪唑或者pH低缓冲液温和洗脱下来，从而得到高纯度的目的蛋白。本产品具有吸附容量大、选择性好、通透性强、易于再生等优点，适用于在非变性或变性条件下纯化任何表达系统表达的His标签重组蛋白。

产品特性

参数	指标
基质	6% 交联琼脂糖凝胶
配基	NTA
形状	球形
粒径	45-165 μm
载量	40-50 mg蛋白/ml wet gel
推荐流速	<300 cm/h
最高耐压	0.3 Mpa
pH 稳定性	3-13

操作步骤

用ProteinIso® Ni-NTA Resin对His标签蛋白进行分离纯化的过程通常包括：装柱、平衡、上样、洗涤、洗脱、再生步骤。

- 1、装柱：重悬介质，根据待纯化蛋白量，将适量介质加入层析柱，静置。
- 2、平衡：用5-10倍柱体积平衡缓冲液平衡层析柱。对于结合能力强的His标签重组蛋白，或为了提高特异性结合，平衡缓冲液中可加入低浓度咪唑(10-20 mM)。
- 3、上样：样品缓冲液应尽可能与平衡缓冲液一致。为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或使用0.45 μm 过滤器过滤。
- 4、洗涤：上样完毕后，用5-10倍柱体积平衡缓冲液洗涤层析柱，收集流出液。
- 5、洗脱：洗脱一般有两种方式。
 - (1) 用不同浓度的咪唑洗脱目的蛋白。用平衡缓冲液配制不同浓度的咪唑，进行梯度洗脱。
 - (2) 不同pH值平衡缓冲液洗脱目的蛋白：配制不同pH值的平衡缓冲液洗脱目的蛋白，大多数蛋白质在pH 4-6范围内洗脱。
- 6、再生：介质使用数次后(具体次数与原料的种类和来源及实验要求有关)，结合能力会有所下降，需要对介质进行再生。
 - (1) 用5倍柱体积去离子水清洗。
 - (2) 用5倍柱体积100 mM EDTA (pH 8.0) 清洗。
 - (3) 用10倍柱体积去离子水清洗。
 - (4) 离子作用吸附的蛋白去除：用5倍柱体积的2 M NaCl清洗；
沉淀或变性物质去除：用5倍柱体积的0.5 M NaOH或0.2 M醋酸或6M盐酸胍浸泡15 min；
疏水结合物质去除：用5倍柱体积70%乙醇或30%异丙醇浸泡15 min。



(5) 用10倍柱体积去离子水清洗。

(6) 用5倍柱体积100 mM NiSO_4 再生。

(7) 用10倍柱体积去离子水清洗。

经以上步骤处理完毕的填料可以立即使用，或加入5倍柱体积20%乙醇，于2-8℃保存。

注意事项

为了避免柱子被堵塞，蛋白样品上样前，建议使用0.45 μm 过滤器过滤

平衡缓冲液推荐配方

- 可溶性蛋白

300 mM NaCl, 50 mM NaH_2PO_4 , 10 mM imidazole, 10 mM Tris base, pH 8.0

- 包涵体蛋白

6 M GuHCl, 100 mM NaH_2PO_4 , 10 mM Tris base, pH 8.0;

或8 M Urea, 100 mM NaH_2PO_4 , 10 mM Tris base, pH 8.0

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.1-202504

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

