

Ni-IDA Chromrose[®] 6FF

使用指南



1 产品简介

科诺赛生物研发生产的Ni亲和层析介质属于一类金属螯合介质,以高流速琼脂糖为基质,以亚氨基二乙酸(IDA)为配基,并螯合金属离子Ni²⁺而形成的一种亲和层析介质,因螯合方式不同,Ni²⁺离子结合力也存在细微差距,在对不同蛋白的纯化过程中表现出不同的选择性,广泛用于His标签蛋白的分离纯化。

Ni-IDA Chromrose[®] 6FF 使用耐压基质,可以耐受最高0.3MPa的压力,更稳定,因此该产品更适合用于工业大规模蛋白的纯化,可以在相对较高的流速下实现对目的蛋白的纯化。

2 技术参数

产品名称	Ni-IDA Chromrose [®] 6FF
配基	亚氨基二乙酸 (IDA)
基质	6%高度交联琼脂糖
粒径	45μm~165μm
每毫升载量	40mgHis标签蛋白
螯合量	50~70μmol/mL
推荐流速	150~600cm/h (根据柱子规格选择合适流速)
最大耐压	0.3MPa
pH稳定性	3~12(工作) 2~14(清洗)
化学稳定性	40°C放置一周:0.01M Hcl, 0.1M NaOH; 12h:1M NaOH, 70%乙酸; 1h:2% SDS, 30min:30%异丙醇
储存	20%乙醇 2°C~8°C

3 操作说明

Ni-IDA Chromrose[®] 6FF 可以在实验室被填装到 HiQumn[®] 中压层析柱中,以扩大产量。将填料填装到层析柱中,根据样本量和填料载量选择合适的层析柱和柱高。

3.1 缓冲液准备

所用缓冲液需采用高纯水配制,使用前建议用0.45μm 滤膜过滤。



平衡缓冲液:20 mM Tris-HCl 500mM NaCl, pH=7.4

洗涤缓冲液:20mM Tris-HCl 500mM NaCl, 10 mM 咪唑, pH=7.4

洗脱缓冲液:20 mM Tris-HCl 500mM NaCl, 500 mM 咪唑, pH=7.4

3.2 样品准备

为了避免堵塞层析柱,样品应经离心或微滤处理,进料量根据介质的载量和料液中目标蛋白的含量计算。

3.3 样品纯化

3.3.1 平衡

用5~10CV的平衡缓冲液平衡层析柱,至流出液电导和pH不变(与平衡液一致)。对于结合力较强的带组氨酸标记的蛋白质,平衡缓冲液中可加入低浓度(20~40 mM)的咪唑。

3.3.2 进样

样品缓冲液应尽可能与平衡液一致。固体样品可用平衡液溶解配制;低浓度样品溶液可用平衡液透析,高浓度样品溶液可用平衡液稀释。

3.3.3 淋洗

上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线。

3.3.4 洗脱

洗脱一般有两种方式,一是采用竞争试剂,例如咪唑(0~0.5M)、组氨酸(0~0.05M)、氯化铵(0~2M)等将蛋白质从柱子上置换下来;二是减小pH值,洗脱目标蛋白,大多数蛋白质在pH 4~6的范围内可被洗下来。用竞争试剂咪唑或减小pH值的方法洗脱蛋白质,金属离子仍结合在柱子上;若用竞争试剂组氨酸或氯化铵洗脱蛋白质,会将金属离子和蛋白质的复合物一起洗下来。

注:为了减少杂蛋白在层析柱上的吸附,可在确保目标蛋白吸附的情况下适当增加样品缓冲液中的咪唑。对于包涵体蛋白,相应的可在平衡、上样和洗脱的缓冲液中加入8M Urea 或6M Gua-HCl。

洗脱缓冲液中必须加入0.15~1.0M NaCl,以消除离子交换作用。梯度洗脱最好在起始平衡液的恒定pH下进行,可采用线性梯度或阶越式梯度洗脱。

3.3.5 保存

依次用3CV平衡缓冲液,5CV纯水,2CV 20%乙醇冲洗层析柱后,在2~8°C密闭保存。

3.3.6 再生

- 1) 使用5倍柱体积去离子水清洗填料;
- 2) 使用5倍柱体积100 mM EDTA(pH 8.0)剥落镍离子;
- 3) 使用10倍柱体积去离子水清洗填料;
- 4) 使用0.1M NaOH清洗5倍柱体积,停留10~15min;
- 5) 使用去离子水清洗填料,直至pH中性;
- 6) 使用3~5倍柱体积100 mM NiSO₄再生挂镍;
- 7) 使用10倍柱体积去离子水清洗;

填料再生后,可以立即使用,如不立即使用,需要将填料悬浮于等体积的20%乙醇中,置于2~8°C保存。

4 在位清洗

为了避免不同样品间的相互干扰,或者当介质污染比较严重时(反压增加),需要对介质进行在位清洗。在位清洗前,需要预先除去介质上螯合的金属离子(见再生操作)。在位清洗时,可采用反向冲洗的方法。

- 1) 对于以离子键结合的蛋白,可用 2~3CV 以上的 2M NaCl 清洗,并用 3 CV 以上的纯水冲洗。
- 2) 对沉淀蛋白、以疏水性结合的蛋白或脂蛋白,可用 1M NaOH 清洗(1~2h),并用 3~10 CV平衡液和3 CV以上的纯水冲洗。
- 3) 对疏水性结合的蛋白、脂蛋白和脂类物质,可用 5~10CV 的70%乙醇或30%异丙醇清洗(20min以上),并用 3~10CV的纯水冲洗。

此外,也可用2CV含去污剂的碱性或酸性溶液清洗。如用0.1~0.5%的非离子去污剂+0.1M乙酸冲洗1~2h,并用 5~10CV的 70%乙醇冲洗去除去污剂,然后用 3~10 CV的纯水冲洗。

5 订货信息

Ni-IDA Chromrose[®] 预装柱

货号	产品名称	规格
31-0120-01 31-0120-05 31-0120-10	Xtrap Ni-IDA 6FF	1mL 5mL 8x100mm

Ni-IDA Chromrose[®] 层析柱

货号	产品名称	规格
11-0120-01 11-0120-02 11-0120-03 11-0120-04 11-0120-05 11-0120-06 11-0120-07	Ni-IDA Chromrose [®] 6FF	10mL 30mL 100mL 500mL 1L 5L 10L

1. Ni-IDA Chromrose[®] 层析介质可提供试用装
2. 如需更大包装可联系我公司销售人员



非常感谢您订购科诺赛生物的产品!
 如需了解最新产品信息,请拨打服务热线 0532-55679191
 或者发邮件至 marketing@chromsep.cn
 或者登陆我们官方网站www.chromsep.cn