

# Ni-NTA Chromrose<sup>®</sup> 6FF Ni-NTA Chromrose<sup>®</sup> HC 使用指南

## 1 产品简介



科诺赛生物生产的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，以次氨基三乙酸(NTA)或亚氨基二乙酸(IDA)为配基，并螯合金属离子Ni<sup>2+</sup>而形成的一种亲和层析介质。该亲和介质不仅具有吸附容量大、选择性好、分辨率高、超低限度的Ni<sup>2+</sup>泄露、易于再生、成本低等优点，还有利于保持产品的生物活性和提高产品的收率，从而广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的分离纯化，尤其是组氨酸标记蛋白质的高效制备。

### Ni-NTA Chromrose<sup>®</sup> 6FF/HC 产品特点：

- 可以耐受一定浓度的还原剂、变性剂或耦合剂等苛刻条件，适用性更广，配体更稳定，选择性更高；
- 可耐受最高0.3MPa的压力，更稳定，可在相对较高的流速下，实现对目的蛋白的纯化。

## 2 技术指标

产品名称	Ni-NTA Chromrose <sup>®</sup> 6FF	Ni-NTA Chromrose <sup>®</sup> HC
配基	次氨基三乙酸(NTA)	次氨基三乙酸(NTA)
基质	6%高度交联琼脂糖	6%高度交联琼脂糖
粒径	45μm~165μm	45μm~165μm
每毫升载量	40mgHis标签蛋白	>40mgHis标签蛋白
螯合量	25μmol/mL	40μmol/mL
推荐流速	150~600cm/h	
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	

备注：根据柱子规格选择合适流速

## 3 操作说明

Ni-NTA Chromrose<sup>®</sup> 6FF/HC 可以在实验室被填充到HiQumn<sup>®</sup>中压层析柱中，以扩大产量。将填料填充到层析柱中，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

- 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。
- 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。
- 淋洗：**上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线。
- 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：① 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。

② 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跃式梯度洗脱。

- 再生：**介质使用数次(具体与样品特性、样品体积、金属离子等有关)后，或者螯合其他金属离子前，需要进行再生处理。

首先用2~3 CV的0.1M EDTA+0.5M NaCl pH7.0清洗柱子，并用2~3CV以上的0.5M NaCl溶液清洗，除去主柱上残留的EDTA，然后再螯合相应的金属离子。

若有变性蛋白质或脂类物质在再生过程中未能有效去除，可用原位清洗(CIP)的方法除去。

## 4 原位清洗

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2MNaCl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1MNaOH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2 CV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。

**重要提示:** 如果使用Xtrap预装柱,可省略装柱步骤。

## 5 订货信息

### Ni-NTA Chromrose<sup>®</sup> 预装柱

货号	产品名称	规格
31-0110-01	Xtrap Ni-NTA 6FF	1mL
31-0110-05		5mL
31-0110-10		8x100mm
31-0350-01	Xtrap Ni-NTA HC	1mL
31-0350-05		5mL
31-0350-10		8x100mm

### Ni-NTA Chromrose<sup>®</sup> 层析介质

货号	产品名称	规格
11-0110-03	Ni-NTA Chromrose <sup>®</sup> 6FF	100mL
11-0110-04		500mL
11-0110-05		1L
11-0350-03	Ni-NTA Chromrose <sup>®</sup> HC	100mL
11-0350-04		500mL
11-0350-05		1L

1. Ni-NTA Chromrose<sup>®</sup>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](mailto:marketing@chromsep.cn)  
 或者登陆我们官方网站[www.chromsep.cn](http://www.chromsep.cn)