

ProteinIso[®] Ni-NTA Resin

使用前请仔细阅读说明书

目录号: DP101

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Ni²⁺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Ni²⁺,从而减少纯化过程中Ni²⁺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	10-20 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2倍体积的再生buffer (6 M GuHCl, 0.2 M acetic acid), 清洗柱子。
 - (2) 用5倍体积去离子水清洗。
 - (3) 用3倍体积2% SDS清洗。
 - (4) 用1倍体积25%乙醇清洗。
 - (5) 用1倍体积50%乙醇清洗。
 - (6) 用1倍体积75%乙醇清洗。



- (7)用5倍体积100%乙醇清洗。
- (8)用1倍体积75%乙醇清洗。
- (9)用1倍体积50%乙醇清洗。
- (10)用1倍体积25%乙醇清洗。
- (11)用1倍体积去离子水清洗。
- (12)用5倍体积100 mM EDTA, pH 8.0溶液清洗。
- (13)用10倍体积去离子水清洗。
- (14)用5倍体积的100 mM NiSO₄再生。

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 NaH₂PO₄, 10 mM imidazole, 10 mM Tris base, pH 8.0
- 包涵体蛋白
6 M GuHCl, 100 mM NaH₂PO₄, 10 mM Tris base, pH 8.0;
或8 M Urea, 100 mM NaH₂PO₄, 10 mM Tris base, pH 8.0

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

