

ProteinIso[®] Ni-IDA Resin

使用前请仔细阅读说明书

目录号: DP111

保存: 2-8°C (20% 乙醇)保存两年。

产品说明

ProteinIso[®] Ni-IDA Resin是螯合金属Ni²⁺而形成的一种亲和层析介质。IDA能够通过三个位点牢固地螯合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-IDA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低pH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, 可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	IDA
形状	球形
粒径	90 μm
载量	20-40 mg蛋白/ml wet gel
推荐流速	<300 cm/h
最高耐压	0.3 Mpa
pH 稳定性	2-14

操作步骤

用ProteinIso[®] Ni-IDA 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液一致。为了避免堵塞层析柱, 样品应经离心或微滤(0.45 μm)处理。
- 4、洗涤: 上样完毕后, 用5-10倍柱体积平衡液洗涤层析柱, 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。用平衡液配制不同浓度的咪唑, 进行梯度洗脱。
 - (2) 不同pH值洗脱目的蛋白。配制不同pH值的平衡液洗脱目的蛋白, 大多数蛋白质在pH 4-6 范围内洗脱。
- 6、再生: 当填料使用多次后, 结合效率会有所下降, 可以用以下方法再生, 提高介质和蛋白质的结合效率。
 - (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)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

