

Ni-NTA 4(6)FF 亲和琼脂糖树脂

Protein A, Agarose Resin

产品描述

Ni-NTA 4FF (6FF) Agarose Resin 以交联琼脂糖微球为基质，通过活化偶联次氨基三乙酸 (NTA)，再整合 Ni^{2+} 所形成的稳定八面体结构。与亚氨基二乙酸 (IDA) 相比，具有更好的整合剂、还原剂、碱性的耐受性，如样品中含有 1-10 mM EDTA 或 1-10 mM β -巯基乙醇或 5 mM DTT，可正常纯化；在整合镍的情况下，也可以用 0.1M NaOH 清洗。

Ni-NTA 琼脂糖凝胶 FF 主要用于纯化带组氨酸标签 (His-Tag) 的重组蛋白。纯化原理是利用重组蛋白组氨酸标签的咪唑环可与过渡金属 Ni^{2+} 形成稳定的配位键，因此能特异、牢固、可逆地吸附于固定这些金属离子的基质，结合了 His-Tag 重组蛋白的 Ni-NTA 琼脂糖凝胶 FF 一般通过增加咪唑浓度进行竞争洗脱。

基础参数

基质	4 (6) %交联琼脂糖凝胶
配基	$-\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_3$
填料粒径	45-165 μm
最大流速	450 cm/h
推荐流速	50-300 cm/h
pH 稳定性	pH 3-10 工作, pH 2-12 清洗
耐反压	0.3 MPa
载量	≥ 20 mg His-tag 重组蛋白/ml

产品信息

产品名称	货号	规格
Ni-NTA 4FF Agarose Resin	AC040001	10 mL
	AC040002	50 mL
	AC040003	100 mL
	AC040004	500 mL
Ni-NTA 6FF Agarose Resin	AC040011	10 mL
	AC040012	50 mL
	AC040013	100 mL
	AC040014	500 mL

运输与保存方法

储存条件	4-8 °C、不可冻存
运输条件	冰袋运输

使用方法

1. 色谱柱装填

- (1) 所有需要用到材料的温度要与色谱操作的温度一样，液体最好做脱气处理。
- (2) 在柱子下端加入蒸馏水，以除去柱子中的空气，关闭柱子出口，在柱内保留少量的蒸馏水。
- (3) 将琼脂糖凝胶连续倒入柱子时，要用玻璃棒的紧靠柱子内壁引流，以减少气泡的产生，让填料先自然沉降。
- (4) 柱压不超过 0.3 MPa，如果装柱系统中无法测柱压，则正常流速下填装。
- (5) 填装好的 Ni-NTA 琼脂糖凝胶 FF 柱用 2-5 个柱体积的初始缓冲溶液平衡，建议流速 100 cm/h，平衡后的柱子可以用于 His-Tag 重组蛋白的上样和洗脱纯化。

2. 上样

- (1) 缓冲液选择：一般选用 pH6-8 的结合缓冲液，常用缓冲液有 10-100 mM 磷酸钠缓冲液、20-200 mM Tris-HCl 缓冲液等。在缓冲液中一般要加入 0.15-0.5M 的 NaCl，以消除离子交换作用。在初次使用 Ni-NTA 琼脂糖凝胶 FF，推荐使用 50 mM PBS (50 mM NaH_2PO_4 , 0.5M NaCl, NaOH 调节 pH 7.4) 作为结合缓冲液。
- (2) 样品处理：样品的缓冲液应与所选结合缓冲液一致。为保证缓冲液一致，可以在结合缓冲液中破碎细菌、或调解 pH 与结合缓冲液一致、或交换至结合缓冲液（常用方法有透析、超滤、脱盐柱换液等）、或用结合缓冲液稀释 2-10 倍等。样品上柱前应 0.45 μm 过滤。

3. 洗脱

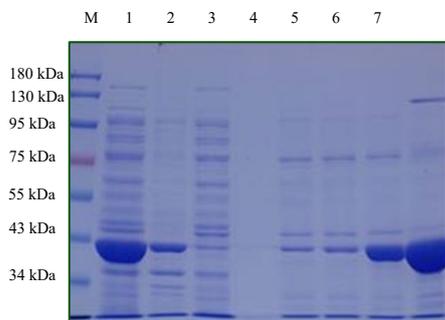
- (1) Ni-NTA 琼脂糖凝胶 FF 最常用的洗脱方法为增加咪唑浓度进行洗脱。
- (2) 咪唑为碱性，相应缓冲液配制后需要用 HCl 进行调节 pH。
- (3) 在初次使用 Ni-NTA 琼脂糖凝胶 FF，不知道洗脱的咪唑浓度，建议在结合缓冲液中分别加入 10 mM、20 mM、50 mM、100 mM、200 mM、500 mM 咪唑，浓度从低到高，分别洗脱和收集，通过 SDS-PAGE 电泳等方法鉴定洗脱组份。
- (4) 有条件的也可以进行线性咪唑梯度洗脱，确定较佳洗脱条件。

4. 在位清洗

在多次使用后需要在位清洗，常用方法为先 5 个柱体积蒸馏水清洗，再用 1-3 个柱体积 50 mM NaOH 清洗 10-20 min，立即用 5 个柱体积结合缓冲液 (50 mM PBS) 清洗平衡。

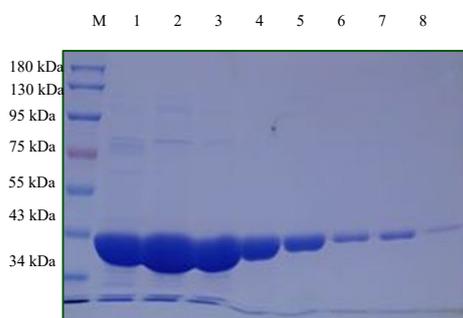
应用案例

Ni-NTA 6FF Agarose Resin 在 His 标签重组蛋白纯化中的应用



原核体系表达某 His 标签蛋白（分子量 40kDa）

- 1: 破碎后上清
- 2: 破碎后沉淀
- 3: 流穿
- 4: 洗杂
- 5,6: 50 mM 咪唑洗脱的第 1 管和第 3 管
- 7,8: 100 mM 咪唑洗脱的第 1 管和第 3 管



（接上图）

表达蛋白：pET-28a-03519

- 1,2: 150 mM 咪唑洗脱的第 1 管和第 3 管
- 3,4: 200 mM 咪唑洗脱的第 1 管和第 3 管
- 5,6: 250 mM 咪唑洗脱的第 1 管和第 3 管
- 7,8: 300 mM 咪唑洗脱的第 1 管和第 3 管

相关产品推荐

产品名称	货号	规格
Ni-NTA 4FF 琼脂糖上机柱	PA041001	1 mL
	PA041002	5 mL
Ni-NTA 4FF 琼脂糖重力柱	PA041011	1 mL
	PA041012	5 mL
Ni-NTA 6FF 琼脂糖上机柱	PA042001	1 mL
	PA042002	5 mL
Ni-NTA 6FF 琼脂糖重力柱	PA042011	1 mL
	PA042012	5 mL

注意事项

- (1) 本产品仅限科学研究使用，不得用于临床诊断和治疗等领域。
- (2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。