

## ProteinIso<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> Ni-IDA Resin是螯合金属Ni<sup>2+</sup>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Ni<sup>2+</sup>，从而减少纯化过程中Ni<sup>2+</sup>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<sup>®</sup> 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 NiSO<sub>4</sub> 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 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM imidazole, 10 mM Tris base, pH 8.0
- 包涵体蛋白  
6 M GuHCl, 100 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM Tris base, pH 8.0;  
或8 M urea, 100 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM Tris base, pH 8.0

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

