



His 镍柱(His 蛋白纯化介质填料)

Ni Sepharose 6 Fast Flow

产品货号: PH-9
产品规格: 2ml / 5ml
保存条件: 2-8°C保存
产品描述:

Ni Sepharose™ 6 Fast Flow 具有特异性好、稳定性高、镍离子脱落少、层析介质颗粒粒度均匀、流速快、His 标记蛋白结合能量高、使用寿命长、重复性好、质量稳定等特点。该产品有 2ml 和 5ml 两种规格，每 ml 柱床体积可吸附 40mgHis 标记蛋白质，可配合注射器或连接液相色谱系统使用。

产品参数:

基质	6% cross-linked agarose
粒径范围	45-165µm
平均粒径	90µm
结合载量	Approx. 40 mg histidine-tagged protein
pH 稳定性	3-12(operational), 2-14(CIP3)
金属离子容量	~15 µmol Ni ²⁺ /ml medium
压力/流量	Base matrix: 250-400 cm/h, 100 kPa, XK 50/60 column, bed height 25 cm
贮存溶液	20% Ethanol
贮存温度	4 to 30°C

使用方法:

- 1.水洗: 用 5-10CV 纯化水以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)清洗介质。此步骤用于去除介质中 20%乙醇。
- 2.平衡: 用 5-10CV 平衡液以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)平衡介质，直至基线平稳后调零。此步骤用于平衡介质，保证介质中的溶液的组分和 pH 与样本一致。
- 3.上样: 样品经过离心、过滤 (0.45µm) 后以 0.2ml/min(1ml)或 1.0ml/min(5ml)进行上样，上样完成后用平衡液清洗直至基线为零。蛋白的结合能力随着裂解物类型、目标蛋白性质、流速、pH 变化而变化，低流速常常能增加样本的结合效率。
- 4.洗杂: 用 5-10CV 洗杂液以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)洗杂，并收集洗杂液。洗杂液用于清洗一些非特异吸附的杂质蛋白。
- 5.洗脱: 用 5-10CV 洗脱液以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)进行洗脱，并收集洗脱液。低流速常常能增加洗脱液中目标蛋白的浓度。
- 6.水洗: 用 5-10CV 纯化水以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)清洗介质。此步骤用于去除介质中洗脱液。
- 7.保存: 用 5-10CV 20%乙醇以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)清洗介质后保存。20%乙醇可以防止微生物

的生长，20%乙醇保存的介质可以在 4-30°C（4-8°C更佳）保存。

溶液配制（如果是包涵体纯化，在下述平衡液、洗杂液、洗脱液中添加 8M 尿素或 6M 盐酸胍）

1. 平衡液：0.02M PB、0.5M NaCl，调节 pH 7.4，室温保存。平衡液中 NaCl 是为了抑制介质的离子交换作用。
2. 洗杂液：0.02M PB、0.5M NaCl、0.005-0.01M 咪唑，调节 pH 7.4，室温保存。根据最终使用需求：非变性样品纯化时，在洗杂液中加入 0.005-0.01M 咪唑（优先考虑回收率）或者直接在平衡液中加入 0.005-0.01M 咪唑（优先考虑纯度）；变性样品纯化时，平衡液中建议不可加入 0.005-0.01M 咪唑，否则结合强度、载量均会有一些下降。
3. 洗脱液：0.02M PB、0.5M NaCl、0.5M 咪唑，调节 pH 7.4，室温保存。一般情况下，洗脱液中咪唑浓度在 0.02-0.10M 即可洗脱下目标蛋白。

清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性蛋白、脂类等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量、流动性、柱效等）。

建议每使用 5-10 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

1. 用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。用于去除洗脱液（使用后直接清洗）或 20%乙醇（使用前清洗）。
2. 用 5-10 倍柱体积 1M NaOH 后静置 0.5-1 小时，再用 10-20 倍柱体积纯化水冲洗直至 pH 至中性。用于去除聚集在介质中的沉淀蛋白或疏水性结合蛋白或脂蛋白等。
3. 用 5-10 倍柱体积的 20%乙醇冲洗后保存。20%乙醇可以防止微生物的生长，20%乙醇保存的介质可以在 4-30°C（4-8°C更佳）保存。