

Ni-TED beads 6FF

货号: N30250

存储条件: 2~8

产品说明

LABLEAD 的 Ni 亲和层析介质属于一类金属螯合介质, 以高流速琼脂糖为基质, 以 IDA、NTA、TED 为配基, 并螯合金属离子 Ni^{2+} 而形成的一种亲和层析介质, 因整合方式不同, Ni^{2+} 离子结合力也存在细微差距, 在对不同蛋白的纯化过程中表现出不同的选择性, 广泛用于 His 标签蛋白的分离纯化, 其中 Ni-TED beads 6FF 可耐受 100mM EDTA 和 10mM DTT。在含有 EDTA 及 DTT 的情况下直接进行目的蛋白纯化, 此介质的清洗再生工作简单, 无需脱镍直接进行 NaOH 清洗。

技术指标

名称	Ni-TED beads 6FF
配基	三(甲基)乙二胺(TED)
基质	6%高度交联琼脂糖
螯含量	30~60umol/mL
载量 (每 ml)	30mg His 标签蛋白
平均粒径	90um, 分布 45~165um
推荐流速	150~600cm/h (根据柱子规格选择合适流速)
最大耐压	0.3MPa
pH 稳定性	3~12(工作) 2~14(清洗)
化学稳定性	0.01M 盐酸、0.01M 氢氧化钠(一周) ; 10mM EDTA、10mM DTT、1M 氢氧化钠、8M 尿素、6M 盐酸(24 小时); 100mMEDTA、0.5M 咪(2 小时); 30%异丙醇(20 分钟)。
应用	用于生物制药和生物工程下游蛋白质、及多肽的分离纯化, 尤其是组氨酸标记蛋白质的高效制备

操作说明

Ni-TED Chromrose 6FF 可以在实验室被填充到中压层析柱中, 以扩大产量。将填料填充到层析柱中, 根据样本量和填料载量选择合适的层析柱和柱高。

1. 缓冲液准备

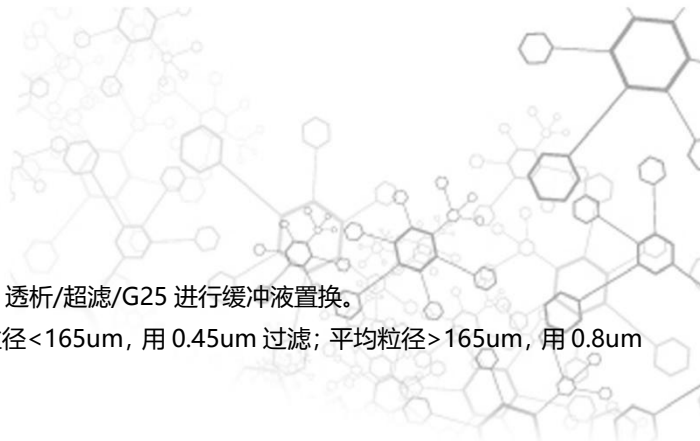
所用缓冲液需要采用高纯水配制, 使用前建议用 0.45um 滤膜过滤。

平衡缓冲液: 0.2M NaCl, 50mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA, PH=7.4

漂洗缓冲液: 0.2M NaCl, 50mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA, 30mM 咪唑, PH=7.4

洗脱缓冲液: 0.2M NaCl, 50mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA, 500mM 咪唑, PH=7.4





2. 样品准备

样品所在溶液要和平衡液保持一致，可以用平衡液进行裂解、透析/超滤/G25 进行缓冲液置换。

样品过滤(平均粒径<45um, 用 0.22um 过滤; 45um<平均粒径<165um, 用 0.45um 过滤; 平均粒径>165um, 用 0.8um 过滤)。

3. 样品纯化

3.1 用 3~5CV 的纯水冲洗出存储缓冲液;

3.2 用 5~10CV 的平衡缓冲液平衡层析柱, 至流出液电导与 pH 不变(与平衡液一致);

3.3 利用泵或者上样环上样;

3.4 上样完毕后用淋洗缓冲液冲洗 10~15CV, 至基线稳定

3.5 用洗脱缓冲液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱一般 5CV, 梯度洗脱可以用一个小的梯度, 例如 20 倍柱体积来分离不同结合强度的蛋白;

3.6 依次用 3CV 平衡缓冲液, 5CV 纯水, 2CV 20%乙醇冲洗层析柱后, 置于 2~8°C 保存。

4. 在位清洗

当填料在使用过程中发现反压过高或者填料上出现明显污染, 需要进行在位清洗操作。

4.1 去除强疏水性结合的蛋白、脂蛋白和脂类

方法一: 使用 30%异丙醇清洗 5~10CV, 接触时间为 15~20min 可以去除此类污染物, 再用 10CV 的纯水清洗;

方法二: 使用 0.3M 或 0.5M NaOH 溶液冲洗填料 3CV, 然后用 1015CV 的纯水清洗。

4.2 去除离子作用结合的蛋白

使用 1.5M NaCl 溶液清洗 10~15min, 再用 10CV 纯水清洗, 清洗好的柱子用 2CV 的 20%乙醇冲洗, 置于 2~8°C 保存

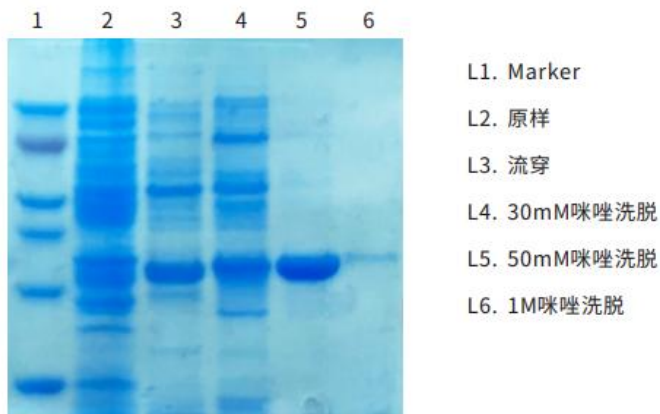


图 1Ni-TED beads 6FF 纯化青霉素酶发酵液电泳图

