



此说明仅限参考

His-Tag 蛋白纯化磁珠(镍离子) IDA-Nickel

使用说明

1 简介

His-tag蛋白纯化磁珠IDA-Nickel是由高质量的亚氨基二乙酸(Iminodiacetic Acid, IDA)共价偶联至琼脂糖磁珠, 再通过IDA的3个结合位点螯合二价镍离子(Ni^{2+})制备而成。专为高效、快速纯化组氨酸标签蛋白而设计的一种新型功能化材料, 可通过磁性分离方式直接从生物样品中一步纯化出高纯度的目标蛋白, 显著地简化了纯化工艺, 降低了设备需求, 适合科研和工业领域便捷快速地进行组氨酸标签蛋白的纯化工作。

产品性质:

基质	磁性琼脂糖微球
粒径	30~150 μm
配基密度	30-50 $\mu mol/mL$
载量	20-40 mg His-tagged protein/mL beads
工作温度	4~40°C
保存液	20%乙醇

2 使用方法

2.1 缓冲液制备

用于缓冲液制备的水和化学品应具有高纯度。使用前通过0.45 μm 过滤器过滤缓冲液。

参考结合缓冲液: 20mM PB缓冲液, 0.5M NaCl, 20-40mM咪唑, pH 7.4 (最佳咪唑浓度是依蛋白质性质而定的, 20-40mM适用于许多蛋白质)。

参考洗脱缓冲液: 20mM PB 缓冲液, 0.5M NaCl, 500mM 咪唑, pH 7.4 (洗脱所需的咪唑浓度是依蛋白质性质而定的)。

2.2 磁珠的预处理

(1) 将磁珠充分混匀, 使用移液器取适量的磁珠悬浮液, 置于离心管中, 将离心管置于磁力架上, 待溶液变澄清后, 用移液器吸弃上清液。

(2) 将离心管从磁力架上取下来, 加入与悬浮液等体积或更大体积的结合缓冲液, 使用枪头反复吹打 5-10 次洗涤磁珠, 置于磁力架上静置澄清后, 用移液器吸弃上清液, 重复洗涤2-5次。

2.3 结合



将含有目的蛋白的上清液（经过0.45um滤膜过滤）加入到处理好的磁珠中，颠倒混匀。将离心管置于混合仪上，室温孵育30 min以上（如果目标蛋白不稳定，则根据样品性质，选择置于2-8°C下孵育1 h以上）。

2.4 洗脱

(1) 洗杂：将离心管置于磁力架，待溶液变澄清后，用移液器移出上清液，保留，以备取样检测。向离心管中加入2倍悬浮液体积的洗脱液，使用枪头反复吹打5-10次，将离心管置于磁力架上，待溶液变澄清后，用移液器吸取上清液，保留，以备取样检测。重复上述步骤 2 次。

(2) 洗脱目标蛋白：可以根据需要改变洗脱体积或者洗脱液浓度从而达到洗脱下更纯的目标蛋白的目的。建议将3-5倍磁珠体积的洗脱液加入到离心管中，使用移液器轻轻吹打3-5次，轻轻翻转离心管数次，使磁珠孵育5分钟，然后将离心管置于磁力架上，待溶液变澄清后，用移液器吸取上清液，即为目的蛋白组分。如有需要，可以重复上述步骤2次，以提高目的蛋白的回收量。

2.5 磁珠后处理

向装有磁珠的离心管中加入3-5倍磁珠体积洗脱液，用移液器反复吹打3-5次，使磁珠充分悬浮，然后，置于磁力架上，吸弃上清，重复该操作2次。再向该离心管中加入3-5倍磁珠体积纯水，用移液器反复吹打3-5次，使磁珠充分悬浮，然后置于磁力架，吸弃上清，重复该操作3-5次。最后，加入20%乙醇溶液，保存于 2-8°C。

2.6 磁珠再生

如果用了几次之后发现磁珠吸附能力发生了明显下降，可以对磁珠进行再生处理。

- (1) 用纯水把磁珠洗5个柱体积；
- (2) 用20mM的PB缓冲液（含0.5M的NaCl），100mM的EDTA，pH7.4，洗5个柱体积；
- (3) 用纯水洗磁珠5个柱体积；
- (4) 用100mM的 NiSO_4 ，过磁珠2-5个柱体积；
- (5) 用纯水洗5个柱体积，再用20%的乙醇洗2-5个柱体积，保存在20%乙醇中。

3 注意事项

(1) 磁珠保存过程中避免冷冻、干燥和高速离心等操作，否则会破坏磁珠的结构，严重影响蛋白结合能力。

(2) 磁珠使用前，请充分震荡，使磁珠保持均匀的悬浮状态。

(3) 使用过的磁珠重复使用时，建议纯化同一种蛋白，纯化不同种蛋白时，建议使用新磁珠，以避免交叉污染。

(4) 本产品仅作科研用途！