

His-标签蛋白纯化填料

名称：His-标签蛋白纯化填料

英文名称：His- label protein purification filler

目录号：QYP1060

规格：10ml, 20ml

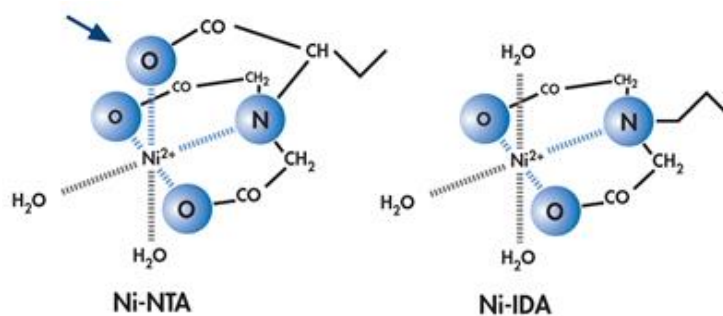
储存形式：50%蛋白纯化填料混悬液

保护液：20%乙醇-PBS

储存温度：4℃

产品介绍：

His-标签蛋白纯化填料是用于纯化 6×His-tag 重组蛋白的一种纯化介质，是由 4% agarose 偶联了一种四齿螯合剂 NTA 所得。本试剂可用于在变性或非变性条件下纯化任何系统表达的 6×His-tag 重组蛋白。与同类型产品 Ni-NDA 相比，Ni-NTA 中 Ni^{2+} 有 4 个共价键与 NTA 结合，Ni-IDA 中只有 3 个共价键。这种强结合力使得 Ni-NTA 中 Ni 的脱落率很低，与 Ni-IDA 相比更加稳定。本试剂可以耐受一定浓度的变性剂、还原剂、耦合剂等苛刻条件，是实验室纯化 His-tag 重组蛋白所采用的最常用填料之一。



技术指标：

外观	乳白色半透明凝胶状凝胶
基质	4%琼脂糖凝胶
配体	Ni-NTA
配体密度	20-40 $\mu\text{mol/mL}$
蛋白质载量	$\geq 10 \text{ mg/ml}$ His-标签蛋白
耐反压	0.1MPa
粒径范围	60 ~ 180 μm
工作温度	4 ~ 40℃
基质 pH 稳定性	3 ~ 10 (长时间) ; 2 ~ 11 (短时间)

实验例：

实验名称：可溶性表达蛋白纯化

试剂及耗材准备：

超声破碎上清

His-标签蛋白纯化填料

层析柱空柱 1 个（柱体积 12ml）

裂解液：1×PBS

洗涤液：50mM NaH₂PO₄, 300mM NaCl, 20mM imidazole, pH8.0

洗脱液：50mM NaH₂PO₄, 300mM NaCl, 250mM imidazole, pH8.0

实验方案：

1. 装柱：将 His-标签蛋白纯化填料混匀。将下层筛板置于层析柱空柱底部。用剪开枪头尖的 1ml 枪头吸取 4ml His-标签蛋白纯化填料混悬液，加入层析柱空柱。待液体流出后（柱床体积 2ml），向层析柱中加入 PBS，将上层筛板置于层析柱顶部，小心向下推直到接触填料表面，压实。筛板和填料层之间不要有气泡。
2. 平衡：向层析柱中加入 10 倍柱床体积的裂解液，（柱床体积 2ml，加裂解液 20ml）清洗柱子。
3. 上柱：将超声破碎上清加入层析柱。用离心管接住流穿液，反复上柱 3 次，使样本中的 His-重组蛋白与纯化填料充分结合。
4. 洗涤：向层析柱中加入 10 倍柱床体积的洗涤液，清洗柱子，除去非特异性结合的杂蛋白。
5. 洗脱：向层析柱中加入 10ml 洗脱液，洗脱目的蛋白。用离心管接住流出的目的蛋白。
6. 再生：向层析柱中加入 10 倍柱床体积的裂解液，清洗柱子。加入 10ml 含 20%乙醇的 PBS，盖上上下盖，将层析柱直立放于 4℃ 保存。

实验例：

实验名称：包涵体表达蛋白纯化

试剂及耗材准备：

超声破碎沉淀

His-标签蛋白纯化填料

层析柱空柱 1 个，柱体积 12ml

变性裂解液：蒸馏水溶解的 8M Urea。

变性平衡液：PBS 溶解的 8M Urea。

变性洗涤液：50mM NaH₂PO₄, 300mM NaCl, 20mM imidazole, 8M Urea, pH8.0

变性洗脱液：50mM NaH₂PO₄, 300mM NaCl, 250mM imidazole, 8M Urea, pH8.0

实验方案：

1. 溶解：将超声破碎沉淀重悬于变性裂解液中（例：100ml 菌体收获的沉淀使用 10ml 变性裂解液重悬），在旋转摇床上室温溶解 30-60min。若样本体积大，可使用磁力搅拌器。此时大部分沉淀应溶解。
2. 离心：将溶解后的样本 10000g，室温离心 10min。收上清。
3. 装柱：将 His-标签蛋白纯化填料混匀。将下层筛板置于层析柱空柱底部。用剪开枪头尖的 1ml 枪头吸取 4ml His-标签蛋白纯化填料混悬液，加入层析柱空柱。待液体流出后（柱床体积 2ml），向层析柱中加入 PBS，将上层筛板置于层析柱顶部，小心向下推直到接触填料表面，压实。筛板和填料层之间不要有气泡。
4. 平衡：向层析柱中加入 10 倍柱床体积的变性平衡液，（柱床体积 2ml，加变性平衡液 20ml）清洗柱子。
5. 上柱：将溶解的沉淀加入层析柱。用离心管接住流穿液，反复上柱 3 次，使样本中的 His-重组蛋白与蛋白纯化填料充分结合。
6. 洗涤：向层析柱中加入 10 倍柱床体积的变性洗涤液，清洗柱子，除去非特异性结合的杂蛋白。
7. 洗脱：向层析柱中加入 10ml 变性洗脱液，洗脱目的蛋白。用离心管接住流出的目的蛋白。
8. 再生：向层析柱中加入 10 倍柱床体积的变性平衡液，清洗柱子。加入 10ml 含 20%乙醇的 PBS，盖上上下盖，将层析柱直立放于 4℃ 保存。s