

IMAC Chromrose[®] 6FF

使用指南



1 产品简介

固定化金属离子亲和层析 (IMAC) 利用了分子对螯合金属离子的亲和性, 其原理是利用蛋白质的组氨酸、半胱氨酸和色氨酸的侧链与多种过渡金属离子如 Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} 的相互作用, 从而达到分离纯化的目的。可广泛应用于分离提纯蛋白质和多肽。当镍不是金属离子的最佳选择时, 适用于组氨酸标记 (His标记) 蛋白质的纯化。

IMAC Chromrose[®] 6FF 由交联琼脂糖和次氨基三乙酸 (NTA) 偶联而成, 可以螯合金属离子的四价位, 螯合的金属离子稳定, 能耐受较高的还原剂, 物理和化学稳定性好并具备特异性好、流速快、载量高等优点。

2 技术参数

产品名称	IMAC Chromrose [®] 6FF
基质	6%高度交联琼脂糖
粒径, D50	90 μm
螯合能力 (以 Ni^{2+} 为例)	20~25 $\mu\text{mol Ni}^{2+}$ /mL填料
推荐流速	≤ 150 cm/h
推荐压力	≤ 0.1 Mpa
pH稳定性	2~14 (工作) 3~12 (长期)
化学稳定性	40 $^{\circ}\text{C}$ 1周: 10mM HCl, 0.1M NaOH, 8M 尿素, 6M 盐酸胍; 40 $^{\circ}\text{C}$ 12h: 1M NaOH, 70%乙酸;
运行温度	4 $^{\circ}\text{C}$ ~40 $^{\circ}\text{C}$
存储	20%乙醇 2 $^{\circ}\text{C}$ ~30 $^{\circ}\text{C}$

备注: 根据柱子规格选择合适流速

3 操作说明

IMAC Chromrose[®] 6FF 可以在实验室被填充到 HiQumn[®] 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。



3.1 螯合金属离子

- ▷ 用纯化水冲洗 5 CV;
- ▷ 用平衡缓冲液冲洗 5 CV;
- ▷ 用纯化水冲洗 5 CV;
- ▷ 用 5 CV 100mM 金属离子液过层析柱;
- ▷ 用 10 CV 平衡缓冲液去除未结合金属离子;
- ▷ 用纯化水冲洗 10 CV;
- ▷ 用 10 CV 洗脱缓冲液清洗层析柱;
- ▷ 用平衡缓冲液平衡层析柱后待用。

一般金属离子环境是中性 (pH7~8)。锌离子选择 $\text{pH} \leq 5.5$, 避免高 pH 盐的溶解性; 铁离子选择 $\text{pH} \approx 3$, 避免形成不溶性物。

3.2 样品纯化

1) 缓冲液准备

所用缓冲液需采用高纯水配制, 使用前建议用 0.45 μm 滤膜过滤。

首选磷酸盐缓冲液, pH 范围在中性 (7~8 之间), 避免适用 EDTA 及柠檬酸盐等, Tris-HCl 也可以使用, 但在金属离子与蛋白质亲和力很弱的情况下应避免使用。为了减少宿主蛋白同介质的非特异结合, 平衡缓冲液和样品中通常加入低浓度的咪唑 (20~40mM)。

缓冲液中必须加入 0.15~0.5M 的 NaCl 以消除离子吸附作用。

2) 样品准备

为防止样品堵塞柱子, 在上样前样品需要用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 并将样品的 pH 和电导率调整到与平衡缓冲液一致。平衡液、咪唑浓度及螯合金属离子种类等因素影响 IMAC Chromrose® 6FF 的上样量。

3) 平衡

用平衡缓冲液清洗层析柱至流出液的 pH、电导和 UV 与平衡液相同。

为了减少金属离子的脱落对层析的影响, 建议在平衡前先用 1 个柱体积的 0.5M 咪唑清洗, 然后再用纯化水清洗 5 个柱体积, 最后用平衡缓冲液平衡层析柱后再上样。

4) 上样

将准备好的样品按照设定条件上样。

5) 淋洗

上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线。

6) 洗脱

洗脱一般有两种方式, 一是采用竞争试剂, 例如咪唑 (0~0.5M)、组氨酸 (0~0.05M)、氯化铵 (0~2M) 等将蛋白质从柱子上置换下来; 二是减小 pH 值, 洗脱目标蛋白, 大多数蛋白质在 pH4~6 的范围内可被洗下来。用竞争试剂咪唑或减小 pH 值的方法洗脱蛋白质, 金属离子仍结合在柱子上; 若用竞争试剂组氨酸或氯化铵洗脱蛋白质, 会将金属离子和蛋白质的复合物一起洗下来。

7) 再生

杂质残留和金属离子的脱落将会影响柱子的层析性能及载量。根据生产需要,建议在每隔1~5个循环后进行重新整合金属离子。

- ▷ 用2~5 CV 剥落金属离子缓冲液 (50mM PB, 0.5M NaCl, 0.1~0.2M EDTA, pH 7.0) 脱金属离子;
Fe³⁺ 在中性溶液中容易形成不溶物,所以建议用50mM EDTA 过夜脱去金属离子;
- ▷ 用2~3 CV 0.5M NaCl 过柱, 去除残留的EDTA;
- ▷ 用5 CV 纯水清洗层析柱;
- ▷ 用1 CV 0.2M金属离子溶液过层析柱;
- ▷ 用5 CV 纯化水去除未结合金属离子;
- ▷ 用5 CV 洗脱缓冲液清洗层析柱;
- ▷ 用平衡缓冲液平衡层析柱后待用。

5 订货信息

IMAC 预装柱

货号	产品名称	规格
31-0380-01 31-0380-05 31-0380-10	Xtrap IMAC 6FF	1mL 5mL 8x100mm

IMAC 层析介质

货号	产品名称	规格
11-0380-01 11-0380-02 11-0380-03 11-0380-04 11-0380-05 11-0380-06 11-0380-07	IMAC Chromrose [®] 6FF	10mL 30mL 100mL 500mL 1L 5L 10L

1. IMAC层析介质可提供试用装 2. 如需更大包装可联系我公司销售人员



非常感谢您订购科诺赛生物的产品!

如需了解最新产品信息,请拨打服务热线0532-55679191

或者发邮件至 marketing@chromsep.cn

或者登陆我们官方网站 www.chromsep.cn