



Co NTA Agarose Beads 6FF

货号: QS01005

目录

一、产品概述	1
二、产品特性与优势	1
三、适用范围	2
四、操作流程	2
五、在位清洗 (CIP) 与再生	3
六、常见问题与解决方案	4
七、订购信息	4

一、产品概述

Co NTA Beads 6FF 是以高度交联的 6%琼脂糖凝胶为基质，通过四配位键整合钴离子 (Co^{2+}) 形成的亲和层析介质，专为高效纯化原核（大肠杆菌）和真核（酵母、昆虫细胞、哺乳动物细胞）表达系统中的 **His 标签蛋白** 而设计。

与传统的镍基填料 (Ni NTA) 相比，本产品对 His 标签蛋白具有**更高选择性**，可降低非特异性结合，提升目标蛋白纯度，同时保持 $>30 \text{ mg/mL}$ 的高载量。其耐压基质（最大耐压 0.3 MPa ）支持高流速操作，适用于实验室至工业级规模蛋白纯化。

二、产品特性与优势

1. 核心性能参数

属性	指标
基质	高度交联 6%琼脂糖凝胶



属性	指标
螯合离子	Co ²⁺
载量	>30 mg 6×His 标签蛋白/mL 介质
粒径范围	45–165 μm
最大操作压力	0.3 MPa (3 bar)
pH 稳定性	工作状态: 2–12; CIP 清洗: 1–14 (短期)
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS (pH 7.4)
储存温度	2–8°C (避免冻结)

表 1: 关键物理化学性质

2. 独特优势

- **高选择性:** 钴离子配位结构减少非 His 标签蛋白结合, 尤其适用于复杂样品 26。
- **苛刻条件耐受性:** 兼容变性剂 (8 M 尿素、6 M 盐酸胍)、去污剂 (Triton™ X-100、NP-40) 及还原剂 (β-巯基乙醇)。
- **工业级稳定性:** 耐高压设计支持高流速 (最大 600 cm/h), 缩短纯化周期。

三、适用范围

- **表达系统:** 大肠杆菌、酵母、昆虫细胞、哺乳动物细胞表达的 His 标签蛋白。
- **样品类型:** 可溶性蛋白、包涵体 (需变性条件)。
- **应用场景:** 科研级小试至工业级大规模纯化。

四、操作流程

1. 样品预处理

- **可溶性蛋白:** 细胞裂解液离心后取上清, 经 0.45 μm 过滤去除颗粒物。
- **包涵体蛋白:**
 - 裂解后离心收集沉淀, 用含变性剂 (8 M 尿素或 6 M Gua-HCl) 的缓冲液溶解。



- 补充还原剂（如 10 mM β -巯基乙醇），避免使用 DTT/TCEP（会降低载量）。

2. 色谱柱装填与平衡

1. 介质用初始缓冲液（如 50 mM Tris-HCl, 300 mM NaCl, pH 8.0）按 3:1（凝胶:缓冲液）配成匀浆，脱气后装柱。
2. 以操作流速（建议 150–300 cm/h）用 5 柱体积平衡缓冲液平衡，监测 UV280 基线稳定。

3. 上样与洗脱

步骤	缓冲液组成	体积	目的
上样	含 10–20 mM 咪唑的平衡缓冲液	$\leq 25\%$ 柱体积	结合 His 标签蛋白
洗杂	含 20–50 mM 咪唑的平衡缓冲液	10–15 CV	去除弱结合杂质
洗脱	含 150–500 mM 咪唑的平衡缓冲液	5–10 CV	收集目标蛋白
再生	含 500 mM 咪唑的平衡缓冲液	2 CV	去除残留蛋白

表 2：推荐纯化步骤及缓冲液条件（CV：柱体积）

关键提示：

- 避免使用含 EDTA、EGTA 或高浓度 Tris 的缓冲液（会剥离钴离子或降低载量）。
- 包涵体纯化时，所有缓冲液需含相同浓度变性剂以维持蛋白溶解状态。

五、在位清洗（CIP）与再生

1. 常规清洗

每轮纯化后依次用以下溶液冲洗：

1. 0.2 M NaOH \rightarrow 2. 4 M 尿素 \rightarrow 3. 70%乙醇 \rightarrow 各 2 柱体积。

2. 钴离子流失再生

若填料变色（钴离子剥落），按序处理：

1. 100 mM EDTA (pH 8.0) \rightarrow 5 CV
2. 去离子水 \rightarrow 5 CV
3. 100 mM CoCl_2 或 CoSO_4 \rightarrow 5 CV
4. 20%乙醇 \rightarrow 储存于 4°C。



六、常见问题与解决方案

问题现象	可能原因	解决方案
柱反压过高	样品含颗粒或核酸	上样前 0.45 μm 过滤; 添加 DNase I 处理
洗脱无目标蛋白	蛋白未表达或结合过弱	提高上样 pH 至 8.0; 降低洗杂咪唑浓度
洗脱峰拖尾	非特异性结合或柱效下降	洗脱缓冲液添加 10%甘油; 检查柱装填均一性
填料颜色变浅	钴离子被螯合剂剥离	按“六.2”步骤再生钴离子

七、订购信息

产品名称	货号
HP Ni TED Agarose Beads 6FF	QS01004
Ni IDA Agarose Beads 6FF	QS01001
Ni NTA Agarose Beads 6FF	QS01002
Ni TED Agarose Beads 6FF	QS01003
Co-NTA Agarose Beads 6FF	QS01005
Co-TED Agarose Beads 6FF	QS01006

安全声明: 本产品仅限科研使用! 操作时需穿戴实验服及手套, 避免接触还原性/螯合试剂。