



HP Ni TED Agarose Beads 6FF

货号: QS01004

目录

一、产品简介	1
二、关键参数	1
三、纯化流程	2
四、在位清洗 (CIP)	3
五、填料再生	3
六、常见问题解决方案	4
七、试剂兼容性	4
八、订购信息	5

一、产品简介

HP Ni TED Agarose Beads 6FF (货号: QS01004) 是以6%高交联琼脂糖微球为基质的镍离子螯合介质, 通过五齿配体TED (三羧乙基二乙烯三胺) 共价偶联Ni²⁺, 实现对组氨酸标签蛋白的高效、高特异性捕获。

✓ 核心优势:

- 极低Ni²⁺泄漏
- 动态载量≥20 mg His标签蛋白/mL树脂
- 耐受高流速及多种化学添加剂

二、关键参数

特性	参数值
基质类型	6%高交联琼脂糖微球
平均粒径	90 μm (45–165 μm)



特性	参数值
动态载量 (DBC)	≥20 mg His标签蛋白/mL树脂
储存条件	2-8°C, 20%乙醇悬浮

三、纯化流程

1. 缓冲液配制 (通用要求)

- 使用高纯度水及试剂
- 所有缓冲液经0.45 μm滤膜过滤

(一) 可溶性His标签蛋白纯化

1.1 内源性表达蛋白 (天然条件)

缓冲液配方 (1L体系) :

缓冲液	配方
裂解/平衡液	50 mM NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O, 500 mM NaCl, 5mM EDTA, 10mM 咪唑, 调pH 8.0
洗涤液	
洗脱液	平衡液 + 340 mM咪唑 (17.0 g)

操作步骤:

1. 细胞裂解:
 - 4°C 5,000 rpm离心5分钟收集细胞
 - 8 mL平衡液重悬, 加蛋白酶抑制剂 (如PMSF)
 - 冰上超声破碎 (1s开/3s停, 总时长30-45分钟)
2. 上样纯化:
 - 12,000 rpm 4°C离心15分钟, 取上清
 - 以0.5-1 mL/min流速上样至平衡好的层析柱
 - 8柱体积洗涤液冲洗至A₂₈₀基线稳定
 - 5-10柱体积洗脱液收集目标蛋白

1.2 外分泌蛋白 (如培养基上清)



- **直接上样**：样品中低浓度EDTA、组氨酸或还原剂不影响，无需透析去除。

(二) 包涵体His标签蛋白纯化 (变性条件)

缓冲液配方 (1L体系) :

缓冲液	配方
裂解/平衡液	100 mM NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O, 500mM NaCl, 5mM EDTA, 10mM 咪唑, 8 M尿素, 调pH 8.0
洗涤液	平衡液 + 40 mM咪唑 (0.68 g)
洗脱液	平衡液 + 340 mM咪唑 (17.0 g)

操作步骤:

1. 包涵体溶解:
 - PBS重悬菌体→超声破碎→离心收集包涵体
 - 平衡液溶解包涵体 (7.5 mL/g湿重), 室温孵育30–60分钟
2. 层析纯化:
 - 上清液上样至预平衡柱
 - 洗涤至A₂₈₀基线→2柱体积洗涤液→5–10柱体积洗脱液收集
 - **注意**: 洗脱蛋白需复性以获得活性

四、在位清洗 (CIP)

适用场景: 柱压升高或可见污染物

1. 疏水蛋白/脂类去除:
 - 10柱体积30%异丙醇循环冲洗5–10次 (15–20分钟)
2. 顽固污染物:
 - 0.1 M醋酸 + 0.1–0.5%非离子洗涤剂 (接触1–2小时)
→ 70%乙醇冲洗5柱体积→去离子水冲洗10柱体积

五、填料再生

全流程再生步骤:

1. 2 CV → 6 M盐酸胍/8 M尿素 + 0.2 M醋酸
2. 5 CV → 去离子水



3. 3 CV → 2% SDS
4. 5 CV → 去离子水
5. 5 CV → 100%乙醇
6. 5 CV → 去离子水
7. 10 CV → 500 mM EDTA (pH 8.0) 注: 需要低流速洗脱。
8. 5 CV → 去离子水
9. 5 CV → 100 mM NiSO₄
10. 10 CV → 去离子水
11. 储存: 2-8°C, 20%乙醇

六、常见问题解决方案

问题现象	原因分析	解决措施
蛋白产量低/未检出	组氨酸标签未暴露	改用变性条件纯化
	洗脱条件过严	降低洗涤强度 (用平衡液代替洗涤液)
洗脱蛋白多条带	杂质残留	增加洗涤体积或采用梯度洗脱 (pH/咪唑)
层析柱变白	Ni ²⁺ 被螯合剂剥离	按“填料再生”步骤补充Ni ²⁺

七、试剂兼容性

试剂类别	兼容浓度 (接触时间 ≤ 4 h)
变性剂	8 M 尿素, 6 M 盐酸胍
还原剂	50 mM β-巯基乙醇, 10 mM TCEP-HCl
去污剂	2% Triton X-100, 2% Tween 20
盐溶液	2 M NaCl, 4 M MgCl ₂ , 5 mM CaCl ₂
有机溶剂	30%异丙醇, 20%乙醇, 50%甘油

避免接触: >100 mM EDTA, 强氧化剂, pH <3 或 >12 溶液长期暴露



八、订购信息

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

提示：

1. 操作全程建议在4°C进行，并使用蛋白酶抑制剂防止降解。
2. SDS-PAGE建议检测流穿、洗涤及洗脱组分以评估纯化效果。

版本日期：2025年7月

技术支持：[17302508337](https://www.17302508337.com) (微信同号)