



Ni TED Agarose Beads 6FF 预装柱

货号: QS01003B

规格: 1 mL / 5 mL / 20 mL

一、产品概述

Ni TED Agarose Beads 6FF 预装柱是基于 6% 高度交联琼脂糖微球基质, 通过共价键偶联 TED 螯合配基并螯合 Ni^{2+} 离子制备而成的亲和层析预装柱。该产品利用 Ni^{2+} 与蛋白质表面组氨酸残基的特异性配位作用, 实现对多组氨酸标签 (His-tag) 重组蛋白的高效分离纯化。

TED 配基通过四个配位键牢固螯合 Ni^{2+} , 具有极低的镍离子泄漏率, 可耐受高浓度还原剂与螯合剂, 适用于真核分泌表达样品等复杂体系的直接上样纯化, 无需繁琐的样品前处理, 最大限度保护目标蛋白的生物活性。

本预装柱适配各类中压色谱系统 (如 ÄKTA 等), 可直接用于蛋白纯化实验, 操作简便、重现性好。

二、核心技术参数

参数项目	技术指标
基质	6% 高度交联琼脂糖凝胶 (球形)
配基	TED 螯合配基, 螯合 Ni^{2+}
平均粒径	90 μm (分布范围: 45–165 μm)
动态结合载量	≥ 15 mg 6 $\times$ His 标签蛋白 /mL 沉降介质
最大操作压力	0.3 MPa (3 bar)
pH 工作范围	2 – 12
CIP 清洗 pH 耐受	1 – 14 (短期)
操作温度	4 – 40 $^{\circ}\text{C}$
储存缓冲液	含 20% 乙醇的水溶液
储存温度	2 – 8 $^{\circ}\text{C}$ (禁止冷冻)

三、预装柱规格参数

规格	柱体积	柱尺寸 (内径 $\times$ 床高)	推荐流速	最大流速
1 mL	1 mL	0.7 cm $\times$ 2.5 cm	0.5 – 1 mL/min	2 mL/min
5 mL	5 mL	1.6 cm $\times$ 2.5 cm	2 – 5 mL/min	10 mL/min
20 mL	20 mL	1.6 cm $\times$ 10 cm	5 – 10 mL/min	20 mL/min



四、产品特点与优势

1. 高稳定性，低镍泄漏

TED 配基对 Ni^{2+} 具有超强螯合能力，镍离子结合牢固，纯化过程中金属离子泄漏量极低，避免目标蛋白被污染，同时延长填料使用寿命。

2. 耐受还原剂与螯合剂

可耐受高浓度 DTT、 β - 巯基乙醇、TCEP 等还原剂及一定浓度 EDTA，真核细胞分泌表达的 His 标签蛋白无需透析或置换缓冲液即可直接上样，简化实验流程，保护蛋白活性。

3. 高载量与高选择性

对 6×His 标签重组蛋白具有高特异性结合能力，一步纯化即可获得高纯度目标蛋白，适用于原核、真核等多种表达体系。

4. 耐压性优异

高度交联琼脂糖基质机械强度高，可承受较高操作压力，支持快速上样与洗脱，缩短纯化周期。

5. 清洗再生简便

无需脱镍即可直接用 NaOH 进行在位清洗，再生流程简单，可重复使用多次，降低实验成本。

五、纯化操作流程

5.1 天然条件纯化（可溶性 His 标签蛋白）

缓冲液配制

建议使用高纯度试剂配制，使用前经 0.45 μm 滤膜过滤除菌。

缓冲液名称	配方（1 L 体系）	pH
裂解平衡缓冲液（LE Buffer）	50 mM NaH_2PO_4 、300 mM NaCl	8.0（NaOH 调节）
洗杂缓冲液（Wash Buffer）	50 mM NaH_2PO_4 、300 mM NaCl、 10 mM 咪唑	8.0（NaOH 调节）
洗脱缓冲液（Elution Buffer）	50 mM NaH_2PO_4 、300 mM NaCl、 250 mM 咪唑	8.0（NaOH 调节）

操作步骤

1. 样品制备

- 收集菌体，用 LE 缓冲液重悬，加入蛋白酶抑制剂（避免使用含 EDTA 的抑制剂）
- 冰上超声破碎细胞，4 $^{\circ}\text{C}$ 、12000 rpm 离心 15 min，取上清备用

2. 柱平衡

- 将预装柱连接至色谱系统，用 5–10 倍柱体积的 LE 缓冲液平衡，直至 A280 基



线稳定

3. 上样

- 将澄清的蛋白样品以推荐流速上样，收集流穿液用于后续分析

4. 洗杂

- 用 8–10 倍柱体积的洗杂缓冲液冲洗，直至 A280 回落至基线水平

5. 洗脱

- 用 5–10 倍柱体积的洗脱缓冲液洗脱目标蛋白，分段收集洗脱峰

6. 后处理

- 根据实验需求，将洗脱液对 20 mM Tris-HCl (pH 8.0) 或 1×PBS (pH 7.4)

透析脱咪唑

5.2 变性条件纯化（包涵体蛋白）

缓冲液配制

缓冲液名称	配方 (1 L 体系)	pH
裂解平衡缓冲液	100 mM NaH ₂ PO ₄ 、10 mM Tris · Cl、8 M 尿素	8.0 (NaOH 调节)
洗杂缓冲液	100 mM NaH ₂ PO ₄ 、10 mM Tris · Cl、8 M 尿素、10 mM 咪唑	8.0 (NaOH 调节)
洗脱缓冲液	100 mM NaH ₂ PO ₄ 、10 mM Tris · Cl、8 M 尿素、250 mM 咪唑	8.0 (NaOH 调节)

操作步骤

1. 包涵体制备

- 菌体破碎后离心收集包涵体，用 1×PBS 多次洗涤去除杂蛋白
- 用含 8 M 尿素的平衡缓冲液溶解包涵体，室温搅拌至完全溶解
- 12000 rpm 离心 30 min，取上清备用

2. 柱平衡

- 用 5–10 倍柱体积的变性平衡缓冲液平衡柱子

3. 上样、洗杂、洗脱

- 操作流程与天然条件一致，全程使用对应变性缓冲液

4. 复性

- 洗脱蛋白可通过梯度透析、稀释复性或柱上复性等方法恢复蛋白活性

六、在位清洗 (CIP)

当柱子反压升高、出现污染或纯化效率下降时，需进行在位清洗以去除残留污染物。

常规 CIP 流程



1. 用 10 倍柱体积的 0.5 M NaOH 溶液以低流速冲洗，接触时间不少于 30 min
2. 用 10 倍柱体积的去离子水冲洗至中性
3. 用 5 倍柱体积的平衡缓冲液重新平衡后即可继续使用

重度污染清洗

1. 去除疏水蛋白 / 脂蛋白：用 10 倍柱体积的 30% 异丙醇循环洗涤 15–20 min
2. 去离子水冲洗：10 倍柱体积去离子水冲洗
3. 去污剂清洗：可选 0.1 M 醋酸 + 0.1–0.5% 非离子型去污剂，接触 1–2 h
4. 去除去污剂：用 70% 乙醇冲洗 5 倍柱体积
5. 最终冲洗：去离子水冲洗至无残留

七、填料完全再生流程

当镍离子大量流失、结合能力显著下降时，按以下步骤进行全流程再生：

1. 2 倍柱体积 6 M 盐酸胍（或 8 M 尿素 + 0.2 M 醋酸）冲洗
2. 5 倍柱体积去离子水冲洗
3. 3 倍柱体积 2% SDS 溶液冲洗
4. 5 倍柱体积去离子水冲洗
5. 5 倍柱体积无水乙醇冲洗
6. 5 倍柱体积去离子水冲洗
7. 5 倍柱体积 100 mM EDTA (pH 8.0) 洗脱残留镍离子
8. 5 倍柱体积去离子水冲洗
9. 5 倍柱体积 100 mM NiSO₄溶液重新螯合镍离子
10. 10 倍柱体积去离子水冲洗去除游离镍离子
11. 平衡缓冲液平衡后即可使用，长期保存需置换为 20% 乙醇，2–8 °C 储存

八、常见问题与解决方案

问题现象	可能原因	解决方法
目标蛋白产量低或无洗脱	His 标签未暴露（蛋白折叠）	尝试变性条件下纯化
	蛋白表达量过低	优化表达条件，提高表达量
	上样量不足	增加上样体积或蛋白浓度
	洗杂条件过严导致蛋白流失	降低洗杂缓冲液中咪唑浓度，或直接用平衡液洗杂
洗脱液中杂带较多	洗杂不充分	增加洗杂体积，或提高洗杂咪唑浓度
	样品中存在其他富组氨	优化洗杂条件，或增加二次纯化步骤



问题现象	可能原因	解决方法
	酸蛋白	
	蛋白降解	全程 4 °C 操作，添加足量蛋白酶抑制剂
填料变白 / 镍离子流失	缓冲液中螯合剂浓度过高	按再生流程重新螯合镍离子，降低样品中 EDTA 浓度
柱压持续升高	样品澄清度不足	上样前经 0.45 μm 滤膜过滤或高速离心
	填料污染堵塞	执行 CIP 清洗，必要时进行全流程再生
蛋白洗脱不下来	蛋白与填料结合过强	提高洗脱咪唑浓度（最高可达 500 mM），或降低洗脱 pH
		可用 10–100 mM EDTA 直接洗脱（会同时洗脱镍离子）

九、试剂兼容性表

本产品与以下试剂在常规使用浓度下兼容：

还原剂

- 10 mM DTT
- 50 mM β- 巯基乙醇
- 10 mM TCEP-HCl
- 10 mM 还原型谷胱甘肽

变性剂

- 8 M 尿素
- 6 M 盐酸胍

去污剂

- 2% Triton X-100
- 2% Tween 20

盐类

- 2 M NaCl
- 4 M MgCl₂
- 5 mM CaCl₂
- 100 mM Na₂SO₄

其他

- 1 M NaOH（短期 CIP）
- 50% 甘油



- 20% 乙醇
- 100 mM EDTA (短期接触)
- 60 mM 柠檬酸盐

注：高浓度 EDTA 长期接触会导致镍离子流失，应避免样品中 EDTA 浓度超过 50 mM；如需处理高 EDTA 样品，建议上样前透析稀释。

十、 储存与运输

储存条件

- 未开封产品：2–8 °C 冷藏保存，禁止冷冻
- 已使用柱子：纯化后用 20% 乙醇充分置换，密封后 2–8 °C 保存
- 避免柱子干涸，一旦介质脱水将导致不可逆损坏

运输条件

- 常温运输即可，到达后立即置于 2–8 °C 储存
- 运输过程中避免剧烈震荡和阳光直射

保质期

- 在规定储存条件下，未开封产品保质期为 2 年
- 正常使用与维护条件下，预装柱可重复使用 5 次以上（具体次数视样品清洁度与操作条件而定）

十一、 订购信息

产品名称	货号	规格
Ni TED Agarose Beads 6FF 预装柱	QS01003B-1	1 mL × 1 支
Ni TED Agarose Beads 6FF 预装柱	QS01003B-5	5 mL × 1 支
Ni TED Agarose Beads 6FF 预装柱	QS01003B-20	20 mL × 1 支
Ni TED Agarose Resin 6FF (散装填料)	QS01003	25 mL / 100 mL / 500 mL

十二、 安全声明

- 本产品仅限科研实验使用，不得用于临床诊断、治疗或人体实验
- 操作时请穿戴实验服、手套和护目镜，避免直接接触皮肤和黏膜
- 避免产品接触强螯合剂、强还原剂长时间高浓度作用
- 实验废弃物请按照实验室生物安全规范处理