

Ni NTA Nanorose 6FF 预装重力柱纯化试剂盒

产品名称	货号	规格
Ni NTA Nanorose 6FF 亲和层析介质	NG-GC0016K	1Kit (1 Column)
		1Kit (5 Columns)
		1Kit (10 Columns)

01 产品简介

Ni NTA Nanorose 6FF 是一款以 6% 琼脂糖凝胶为基质，化学偶联四配位氮川三乙酸 (NTA)；在螯合 Ni²⁺ 后形成稳定的八面体配位结构，镍离子位于中心，可有效抵御小分子对金属中心的攻击。该介质利用 Ni²⁺ 与蛋白质中特定氨基酸侧链（以组氨酸为主）之间的相互作用，实现含有与不含有这些氨基酸、以及组氨酸数量不同的蛋白质的分离与纯化。Ni NTA Nanorose 6FF 尤其适用于组氨酸标签蛋白的纯化，具备高载量、易再生、成本低等优势。

产品优势：

结合谱广：对 6×His/多 His 标签及部分天然富组氨酸蛋白具有选择性。

捕获效率高：专一配位识别，非特异吸附低，洗脱峰集中。

兼容性好：可在 8 M 尿素/6 M 盐酸胍 等变性条件下运行，适配多种裂解/缓冲体系。

工艺友好：装柱稳定、通量可调，可实现再生、脱金属与重金属充装，便于工艺放大。

使用成本优：介质可多次循环使用，综合成本低。

02. 技术参数

表 1 产品参数表

名称	性能
层析介质类型	亲和层析介质
配基	NTA- Ni ²⁺
基架	高度交联的 6%琼脂糖
平均粒径	~60 μm
配基密度	~30 μmol Ni ²⁺ /mL 层析介质
动态载量	≥ 40 mg 组氨酸标签蛋白/mL 层析介质*
最大流速	250 cm/h (D:300 mm, H:15 cm)
耐压	0.3 MPa
使用温度	4-30 °C

* 动态载量的测量条件：装柱高度：10cm，测试流速 150 cm/h，测试缓冲液：0.02M PB, 0.5M NaCl, 5mM 咪唑, pH7.4, 测试样品：1mg/mL 的带 6 个 His 标签的蛋白质，当蛋白质的穿透量达到 10%时，单位介质体积(mL) 的蛋白质上样量(mg)

03 化学稳定性

表 2 化学耐受性表

耐受类别	耐受范围及表现
pH 稳定性	2.0~12.0 (40°C放置 7 天, 其理化性质和功能没有明显变化, 脱镍后填料可耐受 2~14)
试剂兼容性	常见水溶液、6M 盐酸胍、8 M 尿素、0.01M HCl、0.01M NaOH 等, 避免使用螯合剂 (如 EDTA 等) 和还原剂 (DTT 等)

04 纯化流程

纯化用品准备

1. 平衡/结合/洗杂缓冲液：：20mM 磷酸钠, 0.5M NaCl, 20-40mM 咪唑, pH 7.4。 (可以选购纳克自产缓冲液：NG-GC0016B)
2. 洗脱缓冲液：20mM 磷酸钠, 0.5 M NaCl, 500 mM 咪唑, pH 7.4。 (可以选购纳克自产缓冲液：NG-GC0016E)
3. 上柱前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 可以用平衡缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用平衡缓冲液透析。样品在上样前建议离心或用 0.22 或 0.45 μm 滤膜过滤, 减少杂质, 提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

重力柱纯化 (重力柱纯化的参考流程)

1. 平衡：使用 5 倍柱体积的平衡缓冲液对装填好的 Ni NTA Nanorose 6FF 重力柱进行平衡。此过程应重复 2 至 3 次, 确保填料完全处于与目的蛋白一致的缓冲液环境中。
2. 上样：将样品加入已平衡的重力柱, 控制流速确保样品在柱内的保留时间不少于 2 分钟, 以保证与填料的充分接触。收集流穿液, 为提升结合效率, 可进行反复上样。
3. 洗杂：使用 10 至 15 倍柱体积的洗杂缓冲液进行清洗, 以去除非特异性吸附的杂蛋白, 此过程中需收集洗杂液。
4. 洗脱：洗脱是通过增加咪唑浓度实现的, 可以通过线性梯度或者步级梯度, 逐渐增加洗脱液中的咪唑浓度, 将不同结合强度的分子洗脱下来。
5. 再平衡：用平衡缓冲液再次平衡层析柱。

05 清洗与再生 (CIP)

随使用次数增加, 脂质、内毒素、蛋白质等污染物会在层析柱上逐渐累积。为维持柱性能并延长其使用寿命, 建议定期执行以下在位清洗流程：

1. 去除残留 Ni^{2+}

以 5 倍柱体积 (CV) 的金属离子剥离缓冲液 (20 mM 磷酸钠、50 mM EDTA, pH 7.4) 冲洗柱床, 彻底螯合并带走残留 Ni^{2+} 。

2. 去除 EDTA

以 5 CV 纯化水冲洗, 清除柱内残余 EDTA。

3. 按污染类型进行在位清洗 (CIP)

强离子吸附蛋白: 用 2 M NaCl 溶液 5 CV 清洗。

变性/沉淀蛋白: 先用 1 M NaOH 溶液 5 CV 清洗, 再以 5–10 CV 纯化水冲至无碱残留。

疏水物/脂类污染: 先以 70% 乙醇或 30% 异丙醇 2 CV 清洗, 再用 5–10 CV 纯化水彻底置换。

4. 重新挂镍并恢复使用

以 0.1 M NiSO_4 溶液 0.5 CV 充装配体金属, 随后按工艺缓冲液充分平衡, 即可恢复正常使用。

后续的灭菌与储存条件: 可采用 20% 乙醇作用 6h 以上; 若为已装填的层析柱, 可使用 20% 乙醇或 2% 苯甲醇浸泡, 再关闭上下柱头, 并于 4–30 °C 条件下储存。

注意: 本产品仅供科研使用 (RUO), 不得用于人体诊断或治疗。