

1 μm His-Tag 蛋白纯化磁珠（镍离子）

【产品名称】 MagBeads® 1 μm His-Tag 蛋白纯化磁珠（镍离子）

【英文名称】 MagBeads® 1 μm His-Tag Protein Purification Magnetic Beads (Ni^{2+})

【订货信息】

货号	产品名称	规格	浓度
MB1067	MagBeads® 1 μm His-Tag 蛋白纯化磁珠(镍离子)	1 mL	40 mg/mL
		5 mL	40 mg/mL
		10 mL	40 mg/mL

【成分】 1 μm His-Tag 蛋白纯化磁珠（镍离子）

【简介】

东纳生物科技有限公司提供 1 μm His-Tag 蛋白纯化磁珠，由聚苯乙烯和纳米氧化铁组成，具有良好的超顺磁性、单分散性。由 $\text{N}\alpha,\text{N}\alpha$ -双(羧甲基)-赖氨酸水合物 (ANTA) 共价偶联至磁性微球，再通过 ANTA 的 4 个结合位点螯合二价镍离子 (Ni^{2+}) 制备而成，可特异性地与动植物或者微生物裂解液、血清、腹水等样品中含有 His 标签的蛋白结合，从而用于带有 His 标签蛋白或蛋白复合物的纯化、免疫沉淀或免疫共沉淀。

【产品信息】

基质	磁性微球
粒径	约 1 μm
磁珠浓度	40 mg/mL
螯合金属离子	Ni^{2+}
蛋白载量	~15 μg 6 $\times$ His-tagged Protein/ 1 mg MagBeads
保存条件	密封，4 $^{\circ}\text{C}$ /24 个月，禁止冷冻，使用前请充分混匀
包装	塑料瓶

【使用说明】

可使用下列推荐缓冲液，也可根据不同的实验需求进行调整，基本原理就是低咪唑上样，高咪唑洗脱，或者高 pH 上样，低 pH 洗脱。缓冲液在使用前最好用 0.22 μm 或者 0.45 μm 滤膜过滤。

MagBeads® 1 μm His-Tag 蛋白纯化磁珠具有良好的亲水性和单分散性，使用前振荡混匀后即可使用。

使用溶剂和材料：

- Binding Buffer: 20 mM Phosphate Buffer, 500 mM NaCl, 5~50 mM Imidazole, pH7.4;
- Washing Buffer: 20 mM Phosphate Buffer, 500 mM NaCl, 50~100 mM Imidazole, pH7.4;
- Elution Buffer: 20 mM Phosphate Buffer, 500 mM NaCl, 500 mM Imidazole, pH7.4.

实验步骤：

1. 样品处理

(1) 大肠杆菌、酵母等细胞内表达蛋白：表达细胞用适量的 Binding Buffer 稀释，加入蛋白酶抑制剂（如终浓度为 1 mM 的 PMSF），重悬细胞，冰浴超声裂解细胞，即为粗蛋白样品。如果样品过于粘稠，可根据需要在粗样品中加入适量核酸酶，冰浴 30 min，以降解核酸。另外，用户也可以根据实际需要，对蛋白样品进行离心操作；

(2) 胞外表达蛋白：取胞外表达上清，用等量 Binding Buffer 稀释，即为粗蛋白样品；

(3) 动物细胞胞内表达蛋白：取适量动物细胞，先用适量 PBS 洗涤 1 次，弃上清；接着用适量含 1% (V/V) Triton X-100 或 1% (V/V) NP-40 的 Binding Buffer 重悬，加入蛋白酶抑制剂（如终浓度为 1 mM 的 PMSF），冰浴 10 min，即为粗蛋白样品；

2. 磁珠预处理

(1) 将磁珠置于漩涡混匀器上充分混匀，用移液器取 5 mL 磁珠悬液于 15 mL 离心管中，磁分离，弃上清液，从磁分离器上取下离心管。

(2) 加入 5 mL Binding Buffer 到上述装有磁珠的离心管中，上下翻转离心管数次，使磁珠重新悬浮；磁分离，弃上清液。重复洗涤 2 次。

3. 目标蛋白与磁珠结合

(1) 用 10 mL Binding Buffer 悬浮 2 g 湿重的菌体，进行破碎和裂解之后，即为目标粗蛋白样品，加入到装有预处理磁珠的离心管中，将离心管置于漩涡混匀器振荡 15 s。

(2) 将离心管置于旋转混合仪上，室温旋转混合 20~30 min（如果需要，可以在 2~8°C 的低温环境下，旋转混 1 h，防止目标蛋白降解）。

(3) 将离心管置于磁分离器上进行磁分离，移出上清液至新的离心管中以备后续检测，从磁分离器上取下离心管进行后续洗涤步骤。

4. 磁珠洗涤

(1) 加入 10 mL Washing Buffer 到装有磁珠的离心管中，轻轻翻转离心管数次，使磁珠重新悬浮，磁分离，移出清洗液到新的离心管中，以备取样检测。重复此步骤 1 次。

(2) 加入 10 mL Washing Buffer 到装有磁珠的离心管，使磁珠重新悬浮，将磁珠悬液转移到新的离心管 2/3（避免原离心管壁上非特异性吸附蛋白污染目标蛋白），磁分离，移出上清液到清洗液收集管。

5. 目标蛋白洗脱

(1) 用户可根据需要改变洗脱体积调整目标蛋白浓度，加入 2~10 mL Elution Buffer，轻轻翻转离心管数次，使磁珠悬浮，磁分离，收集洗脱液到新的离心管中，即为纯化的目标蛋白样品。

(2) 如果需要，可以重复上述步骤 1 次，收集样品到新的离心管中，以检测目标蛋白是否洗脱完全。

6. 磁珠后处理

(1) 在装有磁珠的离心管中加入 5 mL Elution Buffer，上下翻转离心管数次，使磁珠悬浮，磁分离，去除上清液。重复上述步骤 2 次。

(2) 在离心管中加入 5 mL 去离子水，上下翻转离心管数次，使磁珠悬浮，磁分离，去除上清液。重复上述步骤 2 次。

(3) 加入 20% 乙醇到磁珠中，使总体积为 5 mL，保存于 2~8°C，可用于下一次同种蛋白的纯化。

此外，针对不同需求的用户，我们提供东纳公司专家团队技术支持，配合指导客户使用，帮助客户取得最好的实验效果。

【注意事项】

1. 磁珠取用前应充分混匀，防止取用改变磁珠浓度，避免长时间超声对磁珠表面破坏；
2. 磁珠使用和保存过程中应避免冻融。

【生产单位】

公司名称	南京东纳生物科技有限公司
地 址	南京市江宁区龙眠大道 568 号南京生命科技小镇 5 号楼北楼 6 楼
邮政编码	211000
电话号码	025 8347 5811
电子邮箱	marketing@nanocast.net
公司网站	www.nanocast.net