

Polar MC-IMAC Excel 填料使用手册

一、产品介绍

Polar MC-IMAC Excel 填料是一种金属亲和层析填料，适用于纯化组氨酸 (His) 标签的重组蛋白，这类重组蛋白广泛应用于生物技术领域。

该填料以亲水性聚甲基丙烯酸酯微球为基质，粒径为 30 μm 或 60 μm ，孔径为 800 \AA ，具有较高的物理和化学稳定性。填料表面具有高度亲水性，最大程度地避免了与生物类样品的非特异性吸附。在亲水性表面，以专有连接物链接了能螯合多价金属离子的羧酸基团。

IMAC Excel 填料可重复使用，每次使用后可以直接用 0.5M NaOH 溶液清洗，无需再补充二价镍离子。同一填料对同一蛋白样品最高可重复使用 100 次以上。

填料结构

Polar MC-IMAC Excel 填料有两种类型：游离酸型 (Polar MC30-CA Excel 或 Polar MC60-CA Excel, 羧酸) 和螯合镍离子型 (Polar MC30-Ni Excel 或 Polar MC60-Ni Excel)。游离酸型可用于金属离子去除，也可根据客户要求定制其他金属离子型填料。这两种类型的 IMAC 填料结构如下图所示。

图 1a. Polar MC30/60-CA Excel

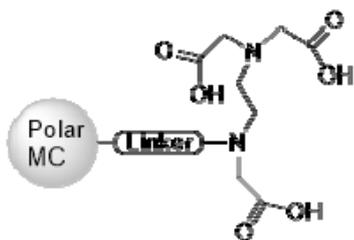
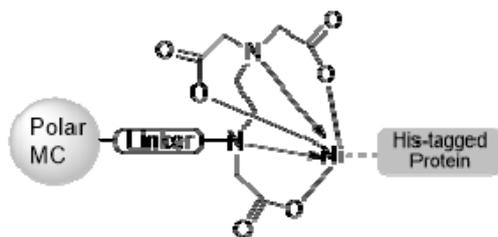


图 1b. Polar MC30/60-Ni Excel



填料特性

该填料化学稳定高，可耐受 0.5M 氢氧化钠溶液 100 次清洗循环。螯合金属离子的填料能在 0.1M 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的清洗条件下不损失金属离子，因此每次使用后无需再补充金属离子。这两种填料都可以散装、FPLC 柱或常规 HPLC 柱的形式提供

技术参数

填料类型	Polar MC30-CA Excel, Polar MC30-Ni Excel Polar MC60-CA Excel, Polar MC60-Ni Excel	
包装条件	50% (v/v) 悬浮液，在 20% 乙醇中保存	
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯	
粒径	20 ~ 45 μm (平均 30 μm) 45 ~ 90 μm (平均 60 μm)	
孔径	800 \AA	
pH 稳定范围	基础填料 Polar MC-CA Excel: 1-13	
	金属离子螯合填料 Polar MC-Ni Excel: 1-13	
载量	Polar MC30-CA Excel	>120 $\mu\text{eq. carboxylic group / mL}$
	Polar MC30-Ni Excel	40-60 $\mu\text{eq. Ni}^{2+} / \text{mL}$
	Polar MC60-CA Excel	>100 $\mu\text{eq. carboxylic group / mL}$
	Polar MC60-Ni Excel	40-60 $\mu\text{eq. Ni}^{2+} / \text{mL}$
组氨酸标记蛋白 (His-protein) 载量	Polar MC30-Ni Excel, ~20 mg/mL Polar MC60-Ni Excel, ~15 mg/mL	
操作温度	$\leq 40^\circ\text{C}$	
操作压力	$\leq 60 \text{ bar}$	
流动相兼容性	水溶液，或水和乙腈、丙酮或甲醇的混合物。	
	常用缓冲液：磷酸盐、三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 和醋酸盐，也与 6M 盐酸胍、8M 尿素、0.1M EDTA、10mM DTT 相容	
线性流速	$\leq 1800 \text{ cm/hour}$	

二、使用说明

2.1 安全

有关本产品安全使用的信息，请参阅安全数据书(SDS)。

2.2 填料使用指南

2.2.1 填料以 50%悬浮液的形式在 20%乙醇中储存并装运。首次使用 IMAC 填料前，用>10 倍填料体积量的无金属水清洗。

2.2.2 将填料在 5 倍体积的水中沉淀三次，以去除细小的破碎颗粒或碎屑。对于 60 μ m 填料，沉降大约需要 1.5 小时，30 μ m 填料大约需要 3 小时。

2.2.3 如果需要消毒，将填料浸泡在 5 倍体积的 0.5M NaOH 溶液中 1 小时以上。将填料过滤并用水冲洗至 pH 值为 7 后再装填。

2.2.4 用选定的上样缓冲液平衡色谱柱。

2.2.5 建议组氨酸标记蛋白溶解在磷酸钠或磷酸钾缓冲液中上样。常用的上样缓冲液：20-50mM 磷酸盐和 0-1.0M 氯化钠缓冲液，pH 7-8，不含咪唑。

2.2.6 上样后，用不含咪唑的上样缓冲液清洗整合的组氨酸标记蛋白填料。

2.2.7 需要注意的是，从 IMAC Excel 填料中洗脱组氨酸标记蛋白可能受到以下因素影响：在浓咪唑溶液（0.1-0.5M）的磷酸盐缓冲液中是否加入氯化钠（0-1.0M）。

2.2.8 不同蛋白可能需要不同的纯化方法，应通过实验来确

定最合适的纯化方法。

2.2.9 包涵体(Inclusion bodies)可能需要变性剂才能溶解（6M 盐酸胍或 8M 尿素）。

2.2.10 如合适，蛋白质的复性可以在色谱柱上进行。

2.3 填料及色谱柱的储存

为了延长储存时间，建议色谱柱和填料在 2-8 $^{\circ}$ C 条件下在 20%乙醇中储存。

2.4 IMAC填料的在线清洗及活化再生

2.4.1 如果有蛋白沉积在填料上，可使用变性剂（如尿素和有机溶剂）清洗填料。

2.4.2 为了去除内毒素和 HCP，可以将填料用 0.5M 或 1.0M 氢氧化钠多清洗一段时间，然后用适当的上样缓冲液以 20 倍柱体积平衡。

2.4.3 IMAC 填料可重复使用，无需再补充二价镍离子。同一填料对同一蛋白样品可重复使用 100 次。对于不同的蛋白样品，建议使用新的 IMAC Excel 填料。

2.4.4 每次使用前，用 10-20 倍柱体积，pH 7-8 的 20-50mM 磷酸钠缓冲液清洗色谱柱。

三、订购信息

填料种类	粒径	订货号
Polar MC30-CA Excel	30 μ m	270530800
Polar MC30-Ni Excel	30 μ m	270630800
Polar MC60-CA Excel	60 μ m	270560800
Polar MC60-Ni Excel	60 μ m	270660800

标准包装规格: 25 mL, 100 mL, 1 L, 也可提供其他批量的包装规格