



珀罗汀生物  
PLD TECHNOLOGY

## 蛋白纯化试剂盒（磁珠版）

苏州珀罗汀生物技术有限公司  
Suzhou PLD Technology, Co., Ltd

修订日期：2024年2月23日

# 目录

试剂盒组成、贮存、稳定性	2
注意事项	2
实验准备	3
实验操作步骤	3
实验可能出现的问题及解决方案	5

## 一. 试剂盒组成、贮存、稳定性

制备次数	30 次
试剂	
Ni 磁珠	750 $\mu$ L
孵育液	6 mL
洗涤液	22.5 mL
洗脱液	3 mL
平衡液	3 mL

Ni 磁珠、孵育液、洗涤液、洗脱液和平衡液：需 4℃冷藏密闭保存。

## 二. 注意事项

操作时要带乳胶手套和眼镜，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医疗咨询。

磁珠保存过程中应避免冷冻/干燥和高速离心等操作，否则会破坏磁珠的结构，严重影响蛋白结合能力。

在使用磁珠前，请温和的、充分的震荡，使磁珠保持均匀的悬浮状态。

### 三. 实验准备

1、准备磁分离器、旋转混合仪。

### 四. 实验操作步骤

#### A. 磁珠准备：

将磁珠充分混匀，使用移液器取 25 $\mu$ L 磁珠悬浮液，置于离心管中，将离心管置于磁分离器上，用移液器移除上清液。

注：在使用磁珠前，请温和的、充分的震荡，使磁珠保持均匀的悬浮状态。

#### B. 磁珠平衡：

将离心管从管架上取下，加入 50 $\mu$ L 平衡液，使用枪头反复吹打 5-10 次，将离心管置于磁分离器上，用移液器移除上清液。

再重复用平衡液洗涤 1 次。

#### C. 磁珠结合目的蛋白：

将 200 $\mu$ L 孵育液加入到处处理好的磁珠，添加约 50 $\mu$ L CFPS 反应液上清，颠倒混匀。将离心管置于混合仪上，4 $^{\circ}$ C 孵育 1~2h。

#### D. 洗杂:

将离心管置于磁分离器上，用移液器移出上清液，保留，以备取样检测。

向离心管中加 250 $\mu$ L 洗涤液，使用枪头反复吹打 5–10 次，将离心管置于磁分离器上，用移液器吸取上清液，保留，以备取样检测。

再重复上述步骤 2 次。

#### E. 洗脱目标蛋白:

将 50 $\mu$ L 洗脱液加入到离心管中，使用移液器轻轻吹打 3–5 次，混匀，将离心管置于磁分离器上，用移液器吸取上清液，即为目的蛋白洗脱液。

如有必要可重复上述步骤 1 次，提高目的蛋白的回收量。

注：可以根据需要改变洗脱体积从而达到调整目标蛋白浓度的目的。

## 五. 实验可能出现的问题及解决方案

问题	可能原因	解决方式
蛋白无法与磁珠结合	His 标签丢失	测序检查基因序列的读码框是否正确，WB 检查 His 是否表达，改变 His-tag 的位置(C- 端或 N- 端)，必要时增加 His 个数
	结合不充分	增加磁珠与蛋白结合时间(如 4°C 2h 或过夜)。
目的蛋白被洗涤液洗脱	洗涤液咪唑浓度过高	降低洗涤液中的咪唑浓度（可用平衡液稀释）
蛋白无法洗脱	洗脱条件太温和（融合蛋白质仍然结合在磁珠上，结合力较强）	增加洗脱时间；增加咪唑浓度洗脱来找出最佳的洗脱条件。
洗脱的目的蛋白中杂质较多	蛋白酶会部分降解目的蛋白	在蛋白纯化过程中，可以添加蛋白酶抑制剂来避免蛋白酶的活性，从而减少蛋白降解的情况。但需要

		注意，某些蛋白酶抑制剂可能对纯化效果有一定的影响，因此需要选择适当的抑制剂，并进行优化。
	杂质蛋白与磁珠亲和力较强	使用合适的咪唑浓度。
	洗涤不充分	增加洗涤的次数，充分洗涤。
	有非目的带标签的蛋白表达	检查基因内部是否含有起始密码子(C 端标记蛋白)或者提前终止位点(N 端标记蛋白)



**珀罗汀生物**  
PLD TECHNOLOGY

**苏州珀罗汀生物技术有限公司**

苏州工业园区界浦路69号维力医疗科创园1号楼302室

☎ 0512-67900128    ✉ sz\_protein@163.com    🌐 www.cellfreeprotein.cn

