



ООО «Абисенс»

ОГРН 1187746448977, ИНН 9710059340, КПП:
236701001
354340, Краснодарский край, ф.т. Сириус, пгт. Сириус,
пр-кт Олимпийский, д.1, помещ. 1-07-13
Почта: 141700, Московская область, г. Долгопрудный,
ул. Дирижабельная, 13, а/я 3.
Тел: +7(495)973-39-93 E-mail: contact@abisense.com
р/сч: 40702810270010282764
в Московский филиал АО КБ "Модульбанк",
БИК: 044525092, к/сч: 30101810645250000092

Паспорт на реагент производства ООО «Абисенс» AbiFlow Magnetic 100 Ni-NTA Agarose

Условия хранения: реагент необходимо хранить при температуре 2 – 8 °С в защищённом от света месте. Не замораживать! Не центрифугировать!



Ознакомьтесь с инструкцией по технике безопасности перед использованием.

По соображениям безопасности транспортировки, поставляемый флакон с носителем **не содержит** консерванта и может храниться в таком виде не более 2 дней. В случае более длительного срока хранения рекомендуем руководствоваться следующей таблицей для расчёта объёма 96% этанола, который надо добавить в транспортный флакон для получения 20% спиртового раствора.

| Заказанный объем носителя, мкл | Объем суспензии в транспортном флаконе, мл | Объем 96% этанола, который надо добавить для получения 20% раствора для хранения, мл |
|--------------------------------|--|--|
| 100 | 2 × 0.8 мл | 2 × 0.2 мл |
| 250 | 5 × 0.8 мл | 5 × 0.2 мл |
| 500 | 10 × 0.8 мл | 10 × 0.2 мл |

AbiFlow Magnetic 100 Ni-NTA Agarose предназначена для быстрой и удобной процедуры очистки рекомбинантных белков, меченных His-Tag. Магнитные микрочастицы инкубируют с клеточным лизатом, содержащим целевой His-меченный белок, а затем их удобно и быстро отделяют от супернатанта с помощью магнита.

Носитель AbiFlow Magnetic 100 Ni-NTA Agarose состоит из кроссшитых агарозных сферических микрочастиц, которые содержат магнетит и к которым ковалентно пришит тетраденатный лиганд – нитрилотриуксусная кислота (NTA). Смола заряжена ионами никеля. Плотность посадки лиганда на микрочастицах магнитной агарозы обеспечивает аналогичную или лучшую, чем у традиционных агарозных смол, емкость по целевому белку. Дополнительным плюсом является наличие функции управления частицами с помощью магнитного поля на каждом из этапов процесса очистки и выделения белка. Магнитные микрочастицы AbiFlow Magnetic 100 Ni-NTA Agarose являются ценным инструментом для мелкомасштабной (до 1 мг) очистки белков, меченных His-Tag, а также для поиска оптимальных условий экспрессии и очистки, которые будут затем использоваться в крупномасштабной очистке с использованием традиционных агарозных хроматографических носителей.

Важные замечания перед началом работы:

- Носитель AbiFlow Magnetic 100 Ni-NTA Agarose предназначен для одноразового использования.
- При использовании магнитного планшета выньте магнит, прежде чем добавлять жидкость, и наоборот, вставьте магнит перед удалением жидкости.
- Дозирование суспензии магнитных микрочастиц: перед дозированием гомогенизируйте суспензию путем тщательного встряхивания флакона, после ресуспендирования немедленно отберите необходимый объем суспензии в рабочую пробирку. Микрочастицы быстро осаждаются, поэтому рекомендуется ресуспендировать частицы между каждым пипетированием.
- Рекомендованные буферы: связывающий буфер 20 mM NaH_2PO_4 , 500 mM NaCl, 5-60 mM имидазол, pH 7.4; элюирующий буфер 20 mM NaH_2PO_4 , 500 mM NaCl, 500 mM имидазол, pH 7.4.

Очистка белков, меченных His-Tag, с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии – это всегда баланс между количеством выделенного белка и его чистотой. Как правило, низкая концентрация имидазола в образце и в связывающем буфере способствует высокому выходу белка, в то время как более высокая концентрация имидазола повышает его чистоту. Отдельно следует отметить, что оптимальная концентрация имидазола зависит от образца и каждый

раз подбирается индивидуально. Ниже приведены два базовых протокола очистки, один из которых с прицелом на высокий выход, а второй – на высокую чистоту.

1. Максимизируем ВЫХОД целевого белка.

1.1. Тщательно гомогенизируйте суспензию магнитных микрочастиц, отберите 200 мкл суспензии, поместите ее в пробирку объемом 1.5 мл. Поместите пробирку в магнитный штатив и удалите консервирующий буфер.

1.2. Добавьте 500 мкл связывающего буфера, содержащего 5 мМ имидазола, ресуспендируйте частицы, отбросьте жидкую фазу.

1.3. Сразу же добавьте 1000 мкл образца, содержащего 5 мМ имидазола. Если объем образца меньше 1000 мкл, то разбавьте его до 1000 мкл связывающим буфером. Ресуспендируйте микрочастицы и инкубируйте смесь в течение 30 минут при перемешивании. Поместите пробирку в магнитный штатив, отбросьте жидкую фазу.

1.4. Добавьте 500 мкл связывающего буфера, содержащего 5 мМ имидазола, ресуспендируйте частицы, отбросьте жидкую фазу. Повторите этап отмывки еще два раза.

1.5. Добавьте 100 мкл элюирующего буфера, ресуспендируйте частицы, соберите элюат (эта фракция содержит основную часть очищенного белка). При необходимости повторите этап элюирования.

2. Максимизируем ЧИСТОТУ целевого белка.

Этот протокол подходит, когда первоочередной задачей является получение высокочистого белка. Высокая чистота достигается использованием высоких концентрациях имидазола (от 20 до 60 мМ) на этапах связывания образца и его промывки. Оптимальная концентрация имидазола зависит от конкретного белка.

2.1. Тщательно гомогенизируйте суспензию магнитных микрочастиц, отберите 200 мкл суспензии, поместите ее в пробирку объемом 1.5 мл. Поместите пробирку в магнитный штатив и удалите консервирующий буфер.

2.2. Добавьте 500 мкл связывающего буфера, содержащего 20-60 мМ имидазола, ресуспендируйте частицы, отбросьте жидкую фазу.

2.3. Сразу же добавьте 1000 мкл образца, содержащего 20-60 мМ имидазола. Если объем образца меньше 1000 мкл, то разбавьте его до 1000 мкл связывающим буфером. Ресуспендируйте микрочастицы и инкубируйте смесь в течение 30 минут при перемешивании. Поместите пробирку в магнитный штатив, отбросьте жидкую фазу.

2.4. Добавьте 500 мкл связывающего буфера, содержащего 20-60 мМ имидазола,

ресуспендируйте частицы, отбросьте жидкую фазу. Повторите этап отмывки еще два раза.

2.5. Добавьте 100 мкл элюирующего буфера, ресуспендируйте частицы, соберите элюат (эта фракция содержит основную часть очищенного белка). При необходимости повторите этап элюирования.

Протоколы, рекомендованные в данной инструкции, подходят для очистки большинства белков, меченных His-Tag. Тем не менее, некоторые условия могут потребовать оптимизации. Условия, на которые следует обратить внимание при планировании эксперимента:

- объем пробы
- количество магнитных микрочастиц
- время инкубации образца (1.3. и 2.3.)
- концентрация имидазола во время этапа отмывки (1.4. и 2.4.)
- количество отмывок (1.4. и 2.4.)
- состав буфера, рН и т.д.

Паспорт безопасности:

Внимание: может причинять вред при впитывании через кожу и при проглатывании. А также вызывать раздражение слизистых оболочек и дыхательных путей, провоцируя аллергические реакции, симптомы астмы или затруднение дыхания. При появлении раздражения или аллергических реакций необходимо срочно обратиться к специалисту.

Меры предосторожности: избегать вдыхания и прямого попадания на слизистые оболочки, использовать перчатки и защитную одежду.

При попадании на кожу: промыть большим количеством воды с мылом в течение 15 минут. Удалить загрязнение с одежды, необходимо постирать одежду перед повторным использованием.

При вдыхании: вывести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему покой в удобном для дыхания положении.

При попадании в глаза: преимущественно держать веки открытыми, осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз - предварительно их снять.



Содержит ионы тяжелых металлов!

При проглатывании: промыть рот большим количеством воды, выпить воды (по меньшей мере два стакана). При плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью.

При появлении респираторных и аллергических симптомов, а также если пострадавший находится в бессознательном состоянии: обратиться за медицинской помощью.