天净沙系列

CAT#:5-380

常温运输及保存

0.5 M PIPES 缓冲液，pH 8.0

0.5 M PIPES Buffer，pH 8.0

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是浓度为 0.5 M，pH 8.0 的 PIPES 缓冲液。PIPES（piperazine-N, N′-bis；CAS 5625-37-6），中文名为 1,4-哌嗪二乙磺酸。该溶液是一种常用于分子生物学实验的 pH 缓冲液。本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大立盒包装

成分	编号	规格	包装
0.5 M PIPES 缓冲液，pH 8.0	5-380	250 mL	250 mL 本色瓶
使用手册	5-380sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，有效期一年。

自备物品

由具体实验决定。

使用流程

以 His 标签重组蛋白镍柱亲和纯化为例，仅供参考，以具体实验流程为准：

一、工作液配制（均以 0.5 M PIPES pH 8.0 为母液稀释）

1. 配置结合缓冲液（20 mM PIPES，pH 8.0）
2. 配置洗涤缓冲液（20 mM PIPES，20 mM 咪唑，pH 8.0）
3. 配置洗脱缓冲液（20 mM PIPES，250 mM 咪唑，pH 8.0）

二、菌体收集与重悬

4. 将诱导表达 His 标签蛋白的大肠杆菌菌液，使用离心机在 4℃、8000×g 条件下离心 10 min，弃去上清培养基，收集菌体沉淀。
5. 按照每 1 g 菌体加入 10 mL 结合缓冲液的比例，重悬菌体沉淀，充分吹打至无明显菌块，加入终浓度 1 mg/mL 的溶菌酶和蛋白酶抑制剂，冰上放置 30 min，裂解菌体细胞壁。

三、菌体超声破碎

6. 将重悬后的菌液置于冰浴中，使用超声破碎仪破碎。
7. 破碎完成后，菌液变为澄清半透明状态，随后在 4℃、12000×g 条件下离心 30 min，收集上清液，即为含有可溶性目的蛋白的粗酶液，沉淀为菌体碎片，丢弃。

四、镍柱预处理与上样

8. 取适量 Ni-NTA 填料装入层析柱，先用 10 倍柱体积的去离子水冲洗柱床，去除填料保存液，再用 10 倍柱体积的结合缓冲液平衡层析柱，流速控制为 1 mL/min，直至流出液 pH 与结合缓冲液一致。
9. 将离心后的蛋白粗提上清缓慢加入层析柱，控制流速，让蛋白与填料充分结

	合，收集流出液，用于后续检测蛋白是否渗漏。 10. 上样完成后，继续用 5 倍柱体积的结合缓冲液冲洗柱床，去除未结合的杂蛋白和菌体残留，直到紫外检测仪 280 nm 读数降至基线水平。 五、洗涤除杂 11. 使用 10 倍柱体积的洗涤缓冲液冲洗层析柱，持续收集流出液，直至 280 nm 吸光度降至基线。 六、目的蛋白洗脱 12. 改用洗脱缓冲液冲洗层析柱，将目的蛋白洗脱下来。 13. 开启紫外检测仪，当 280 nm 吸光度开始上升时，开始收集洗脱峰，每管收集 1 mL，直至吸光度回落至基线，收集的液体即为纯化后的目的蛋白。 14. 纯化后的蛋白可通过超滤管浓缩，分装后置于-80℃保存，避免反复冻融。
关联产品	0.5 M PIPES 缓冲液，pH 7.0