

Dextrin MBP 蛋白纯化层析介质预装柱

HiCap Dextrin

名称	货号	规格
Dextrin MBP 蛋白纯化层析介质（6FF）预装柱	BDTL0015-11	1×1ml
	BDTL0015-51	5×1ml
	BDTL0015-15	1×5ml
	BDTL0015-55	5×5ml
	BDTL0015-3115	3×1ml+1×5ml

1. 产品介绍

Dextrin MBP 蛋白纯化层析介质是一种纯化带有麦芽糖结合蛋白（MBP）标签蛋白的亲层析介质，具体性能见表 1。MBP 可促进连接蛋白的正确折叠，增加在细菌中过量表达的融合蛋白的溶解性，尤其是真核蛋白。该层析介质可以一步纯化 MBP 融合蛋白，结合的融合蛋白可以用 10mM 麦芽糖进行温和洗脱，保护了标签蛋白的活性。如果要去除 MBP 融合部分可用位点特异性蛋白酶切除。

Dextrin MBP 蛋白纯化层析介质预装柱是一种中压预装柱，有 1ml 和 5ml 两种规格的预装柱，分别填装 1ml 和 5ml Dextrin MBP 蛋白纯化层析介质，共有 5 种不同包装规格的产品。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中压色谱系统，如 ÄKTA 等，方便客户操作。

表 1. Dextrin MBP 蛋白纯化层析介质产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	糊精
载量（/ml 介质）	>10 mg MBP 蛋白(80 kDa)
粒径（ μm ）	45-165
最大流速	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	3-12
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	4-8°C

2. 纯化流程

2.1 Buffer 的准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

- **结合/洗杂 Buffer:** 20mM Tris-HCl, 200mM NaCl, 1mM EDTA, pH7.4
- **洗脱 Buffer:** 20 mM Tris-HCl, 1mM EDTA, 10mM 麦芽糖, pH7.4

注意: 结合液和洗脱液中可加入 1mM DTT 或 10mM β -巯基乙醇

2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

2.3 样品纯化

本预装柱是一种用于 MBP 标签蛋白纯化的预装柱产品, 可以用各种常规的中压色谱系统, 以 ÄKTA 仪器使用为例介绍本预装柱使用方法。

1. 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子, 将层析柱连接至色谱系统中。再折断下口, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。
2. 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。
3. 使用至少 5 倍柱床体积的结合 Buffer 平衡色谱柱。1ml 预装柱推荐流速为 1ml/min, 5ml 预装柱推荐流速为 5ml/min。
4. 利用泵或注射器上样。

注: 样品的粘度增加使得即使上样体积很少, 也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压, 使得进样器更难使用。

5. 用洗杂 Buffer 冲洗柱子, 直到紫外吸收达到一个稳定的基线 (一般至少 10-15 个柱体积)。
6. 用洗脱 Buffer 采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中, 通常 5 倍柱体积洗脱液就足够了。可以用一个小的梯度, 例如 20 倍柱体积或更多, 来分离不同结合强度的蛋白质。

2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品 (包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分) 以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 层析介质清洗

本预装柱可以重复使用而无需再生, 但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集, 往往造成流速和结合载量都下降, 这时可按照下面方法对层析介质进行清洗。

1. 3 倍柱体积的去离子水;
2. 3 倍柱体积的 0.1% SDS 或 0.5M NaOH 溶液;

3. 3 倍柱体积去离子水，20%乙醇 2-8°C 保存。

4. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	层析介质被堵塞	按照第3部分进行层析介质清洗。
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜 (0.2 or 0.45 μm) 过滤，或者离心去除。
目的蛋白没有吸附	目的蛋白未表达	确保目的蛋白表达
	样品或缓冲液中存在一些干扰因素如非离子去污剂	样品透析或用结合buffer稀释
	细胞产生大量的淀粉酶影响结合力	培养基中添加葡萄糖，抑制淀粉酶的表达
	融合蛋白使麦芽糖结合位点阻塞或扭曲，影响了目的蛋白的结合力	更换载体
	柱子结合时间太短	适当降低样品上样流速，使作用时间增加
洗脱样品较杂	目的蛋白降解	加一些蛋白酶抑制剂，如PMSF、EDTA等
	平衡/洗杂不充分	增加平衡液体积，确保层析介质充分平衡/洗杂，如层析介质太脏按照第3部分进行层析介质清洗

5. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Dextrin MBP 蛋白纯化层析介质 (6FF)	BDTL0015-25	25ml
Dextrin MBP 蛋白纯化层析介质 (6FF) 预装柱	BDTL0015-11	1×1ml
	BDTL0015-51	5×1ml
	BDTL0015-15	1×5ml
	BDTL0015-55	5×5ml
	BDTL0015-3115	3×1ml+1×5ml