

Dextrin Beads 6FF 的预装柱说明书

货号: AC17649

规格: 1*1mL / 1*5mL / 5*1mL / 3*1mL+1*5mL / 5*5mL

保存: 2-8°C

产品说明:

Dextrin Beads 6FF 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。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。Dextrin Beads 6FF 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。

表 1: 介质性能参数

基质	高度交联 6%的琼脂糖微球
配体	糊精
载量 (/ml 介质)	> 10 mg MBP 蛋白(80 kDa)
最大流速	0.3 MPa, 3bar
pH 稳定范围	3-12
粒径 (μm)	45-165
贮存溶液	20%乙醇

纯化流程:

1、Buffer 的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

平衡/ 洗杂液: 20mM Tris-HCl, 200mM NaCl, 1mM EDTA, pH7.4

洗脱液: 20mM Tris-HCl, 1mM EDTA, 10mM 麦芽糖, pH7.4

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

2、样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤, 减少杂质, 提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3、样品纯化

1)上柱: 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, 打开下出口, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。

2)水洗: 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液。

3)平衡: 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。

4)利用泵或样品环上样。

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)洗杂: 用洗杂液冲洗柱子, 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)洗脱: 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱, 收集洗脱液, 即目的蛋白组分。

7)水洗：依次使用 3 倍柱体积的平衡液和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料，最后再用 5 倍柱体积的 20%的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20%的乙醇中，置于 4℃ 保存，防止填料被细菌污染。

4、SDS-PAGE 检测

将纯化过程中收集的样品（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。

在位清洗

Dextrin Beads 6FF 纯化产品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，需要进行在位清洗操作（Cleaning-in-Place, CIP）。

- 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 度保存。

常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	进行在位清洗。
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜（0.22μm 或 0.45μm）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	样品透析或用平衡液稀释
	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	将样品与 Dextrin Beads 6FF 振荡孵育 4 度 2 小时或更长时间
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，确保树脂充分平衡/洗杂，如树脂太脏进行在位清洗。