



Dextrin Beads 重力柱

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 在位清洗.....	2
4. 问题及解决方案.....	2
5. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

Dextrin Beads 是一种纯化带有麦芽糖结合蛋白 (MBP) 标签的融合蛋白的亲层析介质, 具体性能见表 1。MBP 可促进蛋白的正确折叠, 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 可以一步纯化 MBP 融合蛋白, 目的蛋白可以用 10 mM 麦芽糖进行温和洗脱, 保护了融合蛋白的活性。

Dextrin Beads 重力柱以 Dextrin Beads 为装填材料, 提供 1 ml 和 5 ml 两种规格产品, 方便客户使用, 操作简单, 纯化效率高。

表 1. Dextrin Beads 产品性能

项目	性能
基质	4%琼脂糖微球
配体	糊精
载量	>20 mg MBP 标签蛋白 (80 kDa) /ml 基质
微球粒径	45-165 μm
最大压力	0.1 MPa, 1 bar
pH 稳定范围	3-12
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8 °C

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用前最好用 0.22 μm 或者 0.45 μm 滤膜过滤。平衡液和洗脱液中可加入 1 mM DTT 或 10 mM β-巯基乙醇。

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

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

2.2 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。

2.3 样品纯化

Dextrin Beads 重力柱使用请参考以下说明, 各溶液用量均按照柱体积计算 (例如: 2 个柱体积, 1 ml 规格对应为 2 ml 溶液, 5 ml 规格对应为 10 ml 溶液)。整个纯化流程大约需要 30 min (主要取决于样品体积和溶液的粘稠性), 操作快捷。使用流程请参考图 1。

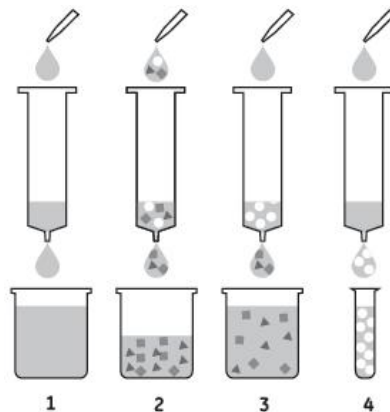


图 1. 使用 Dextrin Beads 重力柱纯化蛋白流程示意图

Step 1: 柱子平衡; Step 2: 上样; Step 3: 洗杂; Step 4: 洗脱



- 1) 将 **Dextrin Beads 重力柱** 固定在铁架台上, 依次去掉下端塞和上端塞, 流干重力柱的保护液。
- 2) 向柱管中加入 5 个柱体积的平衡液, 进行平衡, 使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下, 起到保护蛋白的作用。
- 3) 将样品加到平衡好的重力柱中, 样品保留时间至少 2 min, 保证目的蛋白与介质充分接触, 提高目的蛋白的回收率。收集流出液, 用于 SDS-PAGE 分析蛋白质的结合情况, 在出现问题时, 更方便寻找解决问题的方案。
- 4) 用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行清洗, 去除非特异性吸附的杂蛋白, 收集洗杂液。
- 5) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液进行目的蛋白的洗脱, 分段收集, 每一个柱体积收集一管, 分别检测, 既可以保证所有结合的目的蛋白被洗脱, 又可以得到高纯度和高浓度的蛋白。
- 6) 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。将重力柱保存在等体积的 20%乙醇中, 置于 2-8℃ 保存, 防止填料被细菌污染。

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. 在位清洗

Dextrin Beads 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)。

- 3 倍柱体积的去离子水;
- 3 倍柱体积的 0.1% SDS 或 0.1 M NaOH 溶液;
- 3 倍柱体积去离子水, 20%乙醇 2-8℃ 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	填料被堵塞	按照第3部分进行介质清洗。 裂解液中含有微小的固体颗粒, 建议上柱前使用滤膜 (0.22或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
洗脱样品较杂	柱子结合时间太短	将样品与Dextrin Beads振荡孵育4℃ 2 h或更长时间
	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, 确保介质充分平衡/洗杂, 如介质太脏按照第3部分进行介质清洗。

5. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Dextrin Beads 重力柱	SA077GC01	1 ml
	SA077GC05	5 ml

