

MBP Sep Dextrin Agarose Resin 6FF

MBP 标签蛋白高度交联纯化树脂

产品简介

MBP Sep Dextrin Agarose Resin 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。MBP Sep Dextrin Agarose Resin 6FF 可以一步纯化 MBP 融合蛋白, 结合的融合蛋白可以用 10 mM 麦芽糖进行温和洗脱, 保护了目的蛋白的活性, MBP 融合部分后续可用位点特异性蛋白酶切除。

此外, 本品以高度交联的 6% 琼脂糖凝胶为基质, 具有更高的物理化学特性, 可以耐受更高的压力, 在相对较高的流速下, 实现对目的蛋白的纯化, 更适于工业大规模蛋白的纯化。

产品信息

货号	20515ES08/20515ES25
规格	5 mL /25 mL

产品性质

基质 (Matrix)	高度交联的 6% 琼脂糖微球
配体 (Ligand)	糊精
粒径 (Bead size)	45-165 μm
载量 (Capacity)	>10 mg MBP 蛋白 (80 kDa) /mL 基质
最大压力 (Pressure _{Max})	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围 (pH range)	3-12
储存缓冲液 (Buffer)	含 20% 乙醇的 1× PBS

储存条件

2~8°C 保存, 有效期 2 年。

需准备试剂

所用水和 Buffer 在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤除菌。

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

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

【注】平衡/洗杂缓冲液或洗脱缓冲液中可加入 1 mM DTT 或 10 mM β -巯基乙醇。

使用说明

【注】样品在上样前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤, 减少杂质以防阻塞柱子。

1. MBP Sep Dextrin Agarose Resin 6FF 的装填 (适用于各种中压色谱层析柱的装填)

- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头, 确保柱底筛板上无气泡, 关闭柱底出口, 并在柱底部留出 1-2 cm 的去离子水。
- 2) 将树脂悬浮起来, 小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。

- 3) 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口，开起泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。

【注】：在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%，当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。

- 5) 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器，去除储液器，将分配器至于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。
- 8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中，开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

2. 样品纯化

- 1) **平衡**：用 5 倍柱体积的平衡 Buffer 平衡柱子，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。
- 2) **上样**：Resin 平衡后，加入蛋白样品，使其与 Resin 充分接触，提高目的蛋白回收率，收集流出液。
- 3) **洗杂**：用 10-15 倍柱体积的洗杂缓冲液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 4) **洗脱**：使用 5-10 倍柱体积的洗脱缓冲液，收集洗脱液，即目的蛋白溶液。
- 5) **清洗与保存**：依次使用 3 倍柱体积的平衡 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料，最后用 5 倍柱体积的 20%的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20%乙醇中，置于 2-8°C 保存，防止填料被细菌污染。

3. SDS-PAGE 检测

将纯化过程中得到的样品（包括原始样品、流出组分、洗杂及洗脱组分等）利用 SDS-PAGE 进行检测，判定其纯化效果。

4. 填料清洗

MBP 标签蛋白纯化产品可以重复使用而无需再生，但随着非特异结合蛋白的增多和蛋白的聚集，会造成流速和结合载量性能下降，这时可按照下面方法对填料进行清洗。

- 1) 3 倍柱体积的去离子水；
- 2) 3 倍柱体积的 0.1%SDS 或 0.1 M NaOH 溶液；
- 3) 3 倍柱体积去离子水；
- 4) 填料清洗后保存在等体积的 20%乙醇中，置于 2-8°C 保存。

注意事项

1. 请勿冷冻保存本产品。
2. MBP Sep Dextrin Agarose Resin 6FF 使用前一定要充分颠倒若干次，使琼脂糖珠混合均匀。
3. 所有操作过程中，样本需要在 4°C 或冰上操作。
4. 本产品仅作科研用途。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

附表 问题及解决方案

问题	可能原因	推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	清洗树脂
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上样前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，或离心去除

洗脱组分中无目的蛋白	目的蛋白未表达	优化实验方案，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 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	将样品与树脂振荡孵育 4°C，2h 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。