

MBP-Sep Dextrin 6FF Chromatography Column, 5 mL

MBP 标签蛋白纯化预装柱, 5 mL

产品简介

MBP-Sep Dextrin Agarose Resin 是一种纯化带有麦芽糖结合蛋白 (MBP) 标签蛋白的亲合层析介质, 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, MBP-Sep Dextrin Agarose Resin 6FF 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。MBP-Sep Dextrin 6FF Chromatography Column, 5 mL 是装填了 MBP-Sep Dextrin Agarose Resin 6FF 的一种中压预装柱, 规格 5 mL, 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。

产品信息

货号	20517ES03/20517ES25
规格	5 mL / 5×5 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. 样品纯化 (以 Akta 为例)

1) **准备:** 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) **清洗**: 3-5 倍柱体积去离子水冲洗层析柱中储存液。

3) **平衡**: 用 5 倍柱体积的平衡 Buffer 平衡层析柱, 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。

4) **上样**: 将样品加到平衡好的层析柱中, 推荐流速 1-5 mL/min, 保证目的蛋白与树脂充分接触, 提高目的蛋白的回收率, 收集流出液, 待检测。

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 10-15 倍柱体积的洗杂 buffer 进行清洗, 直到紫外吸收达到一个稳定的基线, 去除非特异性吸附的杂蛋白, 收集洗杂液, 待检测。

6) **洗脱**: 用洗脱 Buffer 采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中, 通常 5 倍柱体积洗脱液足够将目的蛋白洗脱下来。也可以用一个小梯度, 例如 20 倍柱体积或更多, 来分离不同结合强度的蛋白质。

7) **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。

2. 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。

3. 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. 所有操作过程中, 样本需要在 4°C 或冰上操作。
3. 本产品仅作科研用途。
4. 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	更换载体

	扭曲影响了目的蛋白的结合力	
	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。