

Dextrin Agarose Beads 4FF (QS01013)

目录

一、	产品介绍.....	1
二、	溶液配置.....	1
三、	纯化流程.....	2
四、	填料再生.....	2
五、	问题及解决方案.....	2
六、	订购信息.....	3

一、 产品介绍

千株松Dextrin Agarose Beads 4FF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。Dextrin Beads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、Dextrin Agarose Beads 4FF产品特点

基质	4% 高刚性琼脂糖
粒径范围	45-165 μ m
平均粒径	70 \pm 5 μ m
结合载量	~10mg MBP标签蛋白/mL填料
化学稳定性	所有常用缓冲溶液中稳定
流速	\leq 500cm/h
操作压力	\leq 0.3MPa
贮存溶液	20% 乙醇
贮存温度	4-8 $^{\circ}$ C

二、 溶液配置

缓冲液制备

使用的试剂和水必须比较洁净，配制完成后请用0.45 μ m 的滤器进行过滤。

Binding/Wash Buffer: 20 mM Tris-HCl, 200 mM NaCl, 1 Mm EDTA, PH=7.4

Elution Buffer: 20 mM Tris-HCl, 1 Mm EDTA, 10 mM麦芽糖, PH=7.4

Regeneration Buffer: 0.5 M NaOH或0.1% SDS

注意：Binding和Elution Buffer中可加入1 mM DTT或10 mM β -巯基乙醇

样品制备

- 1、样品所在溶液要和平衡液保持一致，可以用平衡液进行裂解、透析/超滤/G25进行缓冲液置换。

- 2、样品过滤（平均粒径 $<45\mu\text{m}$ ，用 $0.22\mu\text{m}$ 过滤； $45\mu\text{m}<$ 平均粒径 $<165\mu\text{m}$ ，用 $0.45\mu\text{m}$ 过滤；平均粒径 $>165\mu\text{m}$ ，用 $0.8\mu\text{m}$ 过滤）。

三、纯化流程

1mL和5mL预装柱可以用注射器，蠕动泵或中低压液相色谱系统进行纯化。

1. 在注射器或泵管中加入结合缓冲液。取下塞子，将色谱柱与注射器(带适配器)或泵管“滴对滴”连接，以避免将空气引入色谱柱。
2. 拆下立柱出口的卡扣端。用至少5倍柱体积(CV)的纯化水或结合缓冲液洗净乙醇。
3. 用至少5cv的结合缓冲液分别以1ml/min或5ml/min的速度平衡1ml和5ml色谱柱。
4. 使用安装在鲁尔适配器上的注射器或蠕动泵将样品泵入色谱柱中。
5. 用5至10 CV的结合缓冲液洗涤，或直到流出物中没有出现任何物质。
6. 用5 CV的洗脱液进行洗脱。洗脱后的馏分可使用脱盐柱进行缓冲交换。

*较低的流速(0.5 ml/min或2.5 ml/min分别为1 ml和5 ml预装柱)可以在样品纯化工艺中使用，以优化性能。

四、填料再生

1. 用3 CV纯化水再生，然后用3 CV 0.5 M NaOH和3 CV蒸馏水再生。NaOH的流速为0.5-1.0 ml/min或2.5-5.0 ml/min，分别对应1mL和5mL预装柱，蒸馏水的流速为1ml/min或5ml/min。
 2. 在开始下一个纯化之前，用5 CV的结合缓冲液重新平衡预装柱。
- 注:另一种再生方法是用0.1%的SDS代替0.5 M的NaOH。不要在冷藏室中用0.1%的SDS再生，因为SDS可能会沉淀。

五、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	按照第三部分进行树脂清洗。
		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	样品透析或用结合液稀释
	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 Agarose Beads 4FF 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，如树脂太脏按照第 3 部分进行树脂清洗。

六、 订购信息

产品名称	货号
Dextrin Agarose Beads 4FF	QS01013
Streptavidin Agarose Beads 6FF	QS01014
Streptactin Agarose Beads 4FF	QS01015
Anti-Flag Affinity Resin 4FF	QS01016
Streptactin XT Agarose Beads 4FF	QS01031