



Dextrin Beads 6FF 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 6FF 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 6FF 可以一步纯化 MBP 融合蛋白，目的蛋白可以用 10mM 麦芽糖进行温和洗脱，保护了融合蛋白的活性。

Dextrin Beads 6FF 重力柱以 Dextrin Beads 6FF 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 6FF 产品性能

项目	性能
基质	高度交联 6%琼脂糖微球
配体	糊精
载量	>10 mg MBP 标签蛋白（80 kDa）/ml 基质
微球粒径	45-165 μm
最大压力	0.3 MPa, 3 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℃

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。

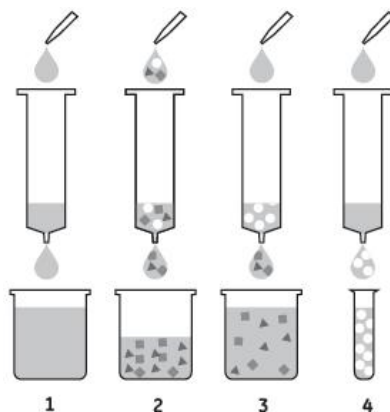


图 1. 使用 Dextrin Beads 6FF 重力柱纯化蛋白流程示意图

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





- 1) 将 **Dextrin Beads 6FF 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 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）。

- 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
	柱子结合时间太短	将样品与Dextrin Beads 6FF振荡孵育4℃、2 h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 6FF 重力柱	SA026GC01	1 ml
	SA026GC05	5 ml

