



HiSelect Dextrin 6FF

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 填料清洗.....	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 6FF** 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。

HiSelect Dextrin 6FF 是一种中压预装柱, 填充 4.7 ml 的 **Dextrin Beads 6FF** 介质。柱管由生物相容性聚丙烯制成, 不与生物分子相互作用。柱管两头都有堵头, 防止保护液的泄露。柱体标签上的箭头表示推荐的流向。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。

表 1. HiSelect Dextrin 6FF 产品性能

性能	指标
规格	4.7 ml
基质	高度交联的 6% 琼脂糖微球
配体	糊精
载量	>10 mg MBP 蛋白(80 kDa)/ml 介质
粒径范围	45-165 µm
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	3-12
柱尺寸 (内径×高度)	0.77×10 cm
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之前建议用 0.22 µm 或 0.45 µm 滤膜过滤。

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

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

注意: 平衡液和洗脱液中可加入 1 mM DTT 或 10 mM β-巯基乙醇。

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。

2.3 样品纯化

HiSelect Dextrin 6FF 是一种用于 MBP 标签蛋白纯化的预装柱产品, 可以用各种常规的中低压色谱系统, 以 ÄKTA 仪器使用为例介绍 **HiSelect Dextrin 6FF** 使用方法。

1) 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。再打开下口, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。

2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。

3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。

4) 利用泵或样品环上样。

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) 用洗杂液冲洗柱子, 直到紫外吸收达到一个稳定的基线 (一般至少 10-15 个柱体积)。





6) 用 5-10 倍柱体积洗脱液洗脱。

7) 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，最后再用 5 倍柱体积的含 20%乙醇的 1×PBS 平衡，然后将预装柱置于 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. 填料清洗

HiSelect Dextrin 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，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，将预装柱置于含 20%乙醇的 1×PBS 中，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	降低上样流速
	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
HiSelect Dextrin 6FF	SA026C47	1×4.7 ml
HiPur Dextrin 6FF	SA026C20	1×20 ml

