



Dextrin Beads

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 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 10 mM 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 Beads 产品性能

性能	指标
基质	4%琼脂糖微球
配体	糊精
载量	>20 mg MBP 蛋白(80 kDa)/ml 介质
粒径范围	45-165 μm
最大压力	0.1 MPa, 1 bar
pH 稳定范围	3-12
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1XPBS
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，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

2.3 重力柱的装填

- 1) 取合适规格的重力层析柱，装入下垫片，加入适量纯水润洗柱管和垫片，关闭下出口。
- 2) 将 **Dextrin Beads** 混合均匀，用枪头吸取适量浆液加入至重力柱中（介质实际体积占悬液的一半），打开下出口流干保护液。
- 3) 加入适量纯水冲洗介质，待柱管中液体重力流干后，关闭下出口。
- 4) 装入润洗后的上垫片，确保垫片与填料之前没有空隙，且保持水平。
- 5) 装填好的重力柱可以直接加入平衡液进行平衡，暂不使用时则加入保护液，2-8℃保存。

2.4 样品纯化

2.4.1 孵育法纯化

- 1) 根据纯化的样品量，取适量 **Dextrin Beads** 加入离心管中，1000 rpm 离心 1 min，吸弃上清；也可加入重力柱中，流干保护液。
- 2) 向离心管中加入 5 倍介质体积的平衡液清洗介质，1000 rpm 离心 1 min，吸弃上清；如使用重力柱，则直接在重力柱中清洗，直接重力流干平衡液；重复两次以上。
- 3) 加入样品，封闭离心管或重力柱管，4℃振荡孵育 2-4 h 或者 37℃孵育 30 min-2 h。
- 4) 孵育结束后，1000 rpm 离心 1 min，吸弃上清，或过滤收集介质，上清保留作为流穿，用于电泳鉴定。
- 5) 用 5 倍介质体积的洗杂液清洗介质，1000 rpm 离心 1 min 或重力柱管过滤，去除上清（注意不要吸到介质），重复 3-5 次，中间建议更换新离心管。
- 6) 加入 3-5 倍柱体积的洗脱液进行洗脱，室温孵育 5 min，1000 rpm 离心 1 min 或重力柱管收集洗脱液，可重复 2-3 次。



2.4.2 重力柱法纯化

- 1) 将装填好的 **Dextrin Beads** 重力柱用 5 倍柱体积平衡液进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲液体系下，重复 2-3 次。
- 2) 将样品加到平衡好的重力柱中，样品保留时间至少 2 min，保证样品和介质充分接触，收集流出液，可以反复上样增加结合效率。
- 3) 用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行洗杂，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 4) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱，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。

介质洗脱结束后，用平衡液冲洗 5-10 柱体积，然后用纯水冲洗 5-10 个柱体积，再用 20%乙醇冲洗 2 个柱体积，置于 2-8℃保存。

2.5 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

Dextrin Beads 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，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	将样品与 Dextrin Beads 振荡孵育4℃ 2 h或更长时间
	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。

5. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Dextrin Beads 6FF	SA026005	5 ml
	SA026025	25 ml
	SA026100	100 ml
	SA026500	500 ml
	SA02601L	1 L
	SA02610L	10 L
PreCap Dextrin	SA026C11	1X1 ml
	SA026C51	5x1 ml
	SA026C15	1X5 ml
	SA026C55	5X5 ml
	SA026CS	3X1 ml+1X5 ml
Dextrin Beads	SA077005	5 ml
	SA077025	25 ml
	SA077100	100 ml
	SA077500	500 ml
	SA07701L	1 L
	SA07710L	10 L