

MBP 4FF(6FF)琼脂糖树脂

MBP 4(6)Fast Flow, Agarose Resin

产品描述

MBP 4FF (6FF) Agarose Resin 是一种纯化带有麦芽糖结合蛋白 (MBP) 标签蛋白的亲层层析介质。MBP 可促进连接蛋白的正确折叠，增加在细菌中过表达的融合蛋白的溶解性，尤其是真核蛋白。MBP 4FF (6FF) Agarose Resin 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。

基础参数

基质	4% (6%) 交联琼脂糖凝胶
配基	糊精/交联淀粉
填料粒径	45-165 μm
最大流速	450 cm/h
推荐流速	50-300 cm/h
pH 稳定性	pH 5-12, pH 3-13
耐反压	0.3 MPa
载量	≥ 10 mg MBP 标签蛋白/ml

产品信息

产品名称	货号	规格
MBP 4FF Agarose Resin	AC030001	10 mL
	AC030002	50 mL
MBP 6FF Agarose Resin	AC030011	10 mL
	AC030012	50 mL

运输与保存方法

储存条件	4-8°C、不可冻存
运输条件	冰袋运输

使用方法

1. 缓冲液的准备

1.1 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, pH 7.4

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. 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3. 重力柱的装填（若直接购买重力柱产品则可略过此步骤）

3.1 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。

3.2 将 MBP4FF(6FF) Agarose Resin 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。

3.3 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。

3.4 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。

3.5 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 $^{\circ}$ C 保存。

4. 样品纯化

4.1 孵育法纯化

1) 根据纯化的样品量，取适量 MBP4FF(6FF) Agarose Resin 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 $^{\circ}$ C 振荡孵育 2-4 h 或者 37 $^{\circ}$ C 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 5min, 1000 rpm 离心 1 min 或重力柱管收集洗脱液，可重复 2-3 次。

4.2 重力柱法纯化

1) 将装填好的 MBP4FF(6FF) Agarose Resin 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 $^{\circ}$ C 保存。

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。

6. 填料清洗

MBP 4FF (6FF) Agarose Resin 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。

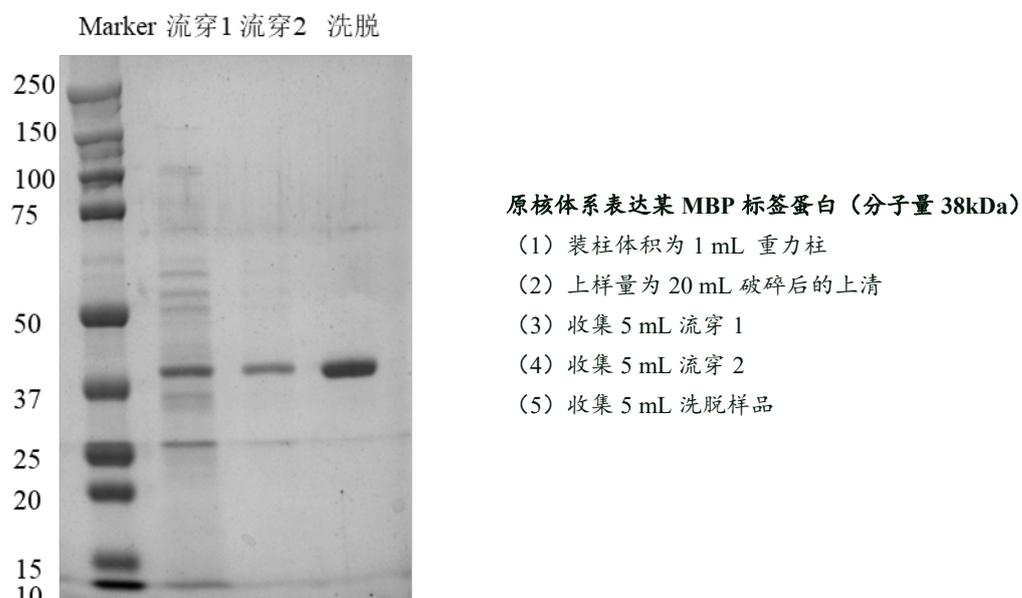
6.1 用 3 倍柱体积的去离子水;

6.2 用 3 倍柱体积的 0.1% SDS 或 0.5 M NaOH 溶液;

6.3 用 3 倍柱体积去离子水, 20%乙醇 2-8 °C保存。

应用案例

MBP 6FF Agarose Resin 在 MBP 标签重组蛋白纯化中的应用



相关产品推荐

产品名称	货号	规格
MBP 4FF 琼脂糖上机柱	PA031001	1 mL
	PA031002	5 mL
MBP 6FF 琼脂糖上机柱	PA031011	1 mL
	PA031012	5 mL
MBP 4FF 琼脂糖重力柱	PA032001	1 mL
	PA032002	5 mL
MBP 6FF 琼脂糖重力柱	PA032011	1 mL
	PA032012	5 mL

注意事项

- (1) 本产品仅限科学研究使用,不得用于临床诊断和治疗等领域。
- (2) 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

