PurKine™ 麦芽糖结合蛋白标签糊精树脂

Cat #: BMR2020 Size: 5 mL/25 mL

	麦芽糖结合蛋白标签糊精树脂，4%琼脂糖凝胶		
REF	**货号：**BMR2020	LOT	**批号：**见产品标签
	载量：>20 mg MBP-tagged protein/mL		**微球粒径：**45-165 μm
	最大压力：0.1 MPa, 1 bar		**储存液：**含 20%乙醇的 PBS
	保质期：4℃保存 12 个月		

原理

麦芽糖结合蛋白（MBP）是大肠杆菌麦芽糖/麦芽糖糊精系统的成员，负责麦芽糖糊精的摄取和有效分解代谢。MBP-Tag 作为一种融合蛋白，在提高许多蛋白的表达水平和溶解度方面非常有效。PurKine™ 麦芽糖结合蛋白标签糊精树脂为 MBP-Tag 蛋白的纯化提供了快速，和高效的方法。

试剂准备

用于配制缓冲液的水和化学试剂需要高纯度，缓冲液使用之前使用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。对于大多数蛋白质，可以使用以下推荐缓冲液：

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 Maltose, pH 7.4

注意：可在 Binding，Elution buffer 中添加 1 mM DTT 或 10mM β-巯基乙醇。

样本制备

样品在上样前建议离心或 0.22 μm/0.45 μm 滤膜过滤，以防止堵塞柱子。如果样本太粘稠，可以用 Binding buffer 稀释，注意不要超过树脂的载量。

实验步骤

1. 用适量的树脂装重力柱，流干保护液。
2. 向柱中加入 2 倍柱体积 Binding buffer。平衡树脂，流干后，再重复 3 次。
3. 将处理好的蛋白提取物样本（蛋白提取物与等体积的 Binding buffer 混合制备样本）加入树脂中孵育。注意收集流穿液，可通过 SDS-PAGE 分析。

注意：为了最大限度结合，样本可在 4℃或室温与树脂孵育 30 min，注意不要超过树脂的载量。

4. 向柱中加入 2 倍柱体积 Wash Buffer，去除非特异性吸附蛋白。注意收集洗杂液用于 SDS-PAGE 检测分析，重复 6 次。
5. 向柱中加入 5-10 倍柱体积的 Elution Buffer 洗脱蛋白，或直至流出物 OD280 nm 稳定，分段收集，每个柱体积收集一管，分别检测。
6. 检测和鉴定含有目标蛋白的组分。通过紫外分光光度计，SDS-PAGE 或 Western blotting。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

柱子保存

用 2 倍柱体积的 Binding buffer 和 2 倍柱体积的去离子水依次清洗平衡柱，重复 2 次。然后加入 2 倍柱体积的 20%乙醇，重复 1 次。加入等体积含 20%乙醇的 PBS 作为储存液，4℃保存，防止树脂被细菌污染。

在位清洗

一般情况下，树脂至少可以使用 5 次。当细胞碎片和非特异性蛋白的聚集，并且在洗涤步骤中无法完全去除。如果该柱需要再次使用，应将这些污染物从柱上清除。通过在位清洗清除和防止污染物的逐步累积。

1. 向柱中添加 3 倍柱体积的去离子水。
2. 向柱中添加 3 倍柱体积的 0.1% SDS 或 0.5 M NaOH 溶液。
3. 向柱中添加 3 倍柱体积的去离子水，添加树脂等体积的含 20%乙醇的 PBS 保护液，4℃保存。

常见问题

问题	原因	推荐解决方案
柱子反压过高	柱子被堵塞	在位清洗，增加样本离心速度或过滤样本
无目的蛋白	蛋白表达量低	通过检测提取液、流穿、洗脱部分和离心颗粒中的蛋白表达量，检查蛋白表达水平。或者应用更大的样本容量。
蛋白较少	目的蛋白降解	4℃含有蛋白酶抑制剂的条件下纯化
	样品或缓冲液中存在大量淀粉酶	培养基中加入葡萄糖抑制淀粉酶的表达

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTP2020	PurKine™ 麦芽糖结合蛋白标签蛋白纯化试剂盒（糊精）
ABT2070	MBP 标签小鼠单克隆抗体（9Y5）
KTP2001	PurKine™ 组氨酸标签蛋白纯化试剂盒（Ni-NTA 树脂）
KTP2010	PurKine™ 谷胱甘肽 S 转移酶标签蛋白纯化试剂盒（谷胱甘肽）
KTP2030	PurKine™ 生物素标签蛋白纯化试剂盒（链霉亲和素）
KTP2070	PurKine™ 抗体纯化试剂盒（蛋白 A/G）
KTP2140	PurKine™ 内毒素清除试剂盒（多粘菌素 B）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.