

# 蛋白质的透析除盐

蛋白质透析是对样品除盐(更换缓冲介质)的方法之一,其相对温和,可以确保蛋白质的稳定,例如去除洗包涵体时使用的高浓度尿素。本Protocol是实验室常规操作,实验室使用透析袋为 D44nm 8-14kDa(<8kDa一定能透析出去,>14kDa一定透析不出去)

## 透析袋的准备

1. 配制1 mM EDTA (pH=8.0,  $M_r=292.24$  g/mL): 0.292g EDTA加入到800 mL去离子水中,溶解后pH约为3.0,加入少量NaOH溶液(1M NaOH 约600 $\mu$ L),充分溶解后pH会降低,pH稳定至8.0,定容至1L
2. 配制2%(m/v) NaHCO<sub>3</sub>: 称取10 g NaHCO<sub>3</sub>溶于400 mL 1 mM EDTA (pH=8.0),待完全溶解,用1 mM EDTA (pH=8.0)定容到500 mL
3. 将透析袋剪成适当长度(10-20cm)的小段,未处理的透析袋放在袋子中密封好
4. 在500 mL的NaHCO<sub>3</sub>溶液中将透析袋煮沸10 min,磁力搅拌器温度调到500°C煮沸,大约10 min 溶液可煮沸,300°C以上可维持沸腾
5. 煮过后,用去离子水将透析袋里外彻底漂洗
6. 将透析袋置于500 mL 1 mM EDTA (pH=8.0)中煮沸10 min
7. 透析袋冷却后存放于4°C,应确保透析袋始终浸没在液体中  
**! 从此步起用透析袋时一定要戴PE手套操作**
8. 在使用之前要用去离子水将透析袋里外加以清洗

## 透析

1. 提前配制透析液,高压蒸汽灭菌并降温后4°C预冷
2. 对处理好的透析袋进行操作时,要在手套外再套一层PE手套,不要弄破透析袋,操作过程中不要使袋子完全干掉,取出后用去离子水将透析袋里外冲洗干净
3. 测漏: 在透析袋一侧用夹子夹紧,加入一定量水,检查透析袋是否漏水(不会润湿纸巾)
4. 将透析袋浸泡进透析液中润洗两次,后放开一侧夹子,将蛋白样品加入到透析袋中,夹子夹紧,放进透析液中(使用 L 烧杯),放入转子,在4°C磁力搅拌器上进行搅拌透析
5. 每次透析需要3-4小时,后更换新的透析液(降低尿素浓度或更换一次相同的透析液)
6. 透析结束后,用枪将蛋白样品吸出到预冷的1.5 mL管中,SDS-PAGE检测

修订日期 2023-10-08