

Streptactin Agarose Resin 4FF

Strep(II)标签蛋白琼脂糖纯化树脂

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Streptactin Agarose Resin 4FF (Strep(II)标签蛋白琼脂糖纯化树脂)	20495ES08	5 mL
	20495ES25	25 mL
	20495ES60	100 mL

产品描述

Strep-Tag II 为 8 个氨基酸的小标签 (WSHPQFEK)，由于标签小，仅为 1.06 kDa 左右，不影响融合后蛋白质的结构和功能，因此无需去除该标签。其特异性高，单步纯化纯度高，纯化条件温和，蛋白两端均可融合等突出特点迅速得到了广泛应用。Twin Strep-tag II 是一个顺序排列的两个 Strep-tag II 序列（通过内部氨基酸连接），该标签能够像 Strep-tag II 一样进行温和、快速的纯化。

Streptactin 是最稳定的蛋白之一，其偶联至高度交联的 4%琼脂糖微球上，可用于各种表达系统，包括杆状病毒、哺乳动物细胞、酵母和细菌中含有 Strep-Tag II 标签蛋白纯化，同时该树脂也可用于 Twin Strep-Tag II 标签纯化。

产品性质

基质	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体	Streptactin
粒径	45-165 μm
载量	3-5 mg Twin Strep-tag II 蛋白/mL 介质
最大流速	300cm/h
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS

运输和保存方法

冰袋运输。2~8°C保存，有效期 2 年。

注意事项

- 1.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2.本产品仅作科研用途！

使用方法

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: 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0

或 PBS: 50 mM sodium phosphate, 280 mM NaCl, 6 mM potassium chloride, pH7.4。

洗脱液: 在平衡/洗杂液中添加 2.5 mM 的脱巯生物素或 D-生物素混匀即可。

再生液: 1 M NaOH 或平衡液中加入 1 mM HABA。

注: D-生物素与 Streptactin 结合紧密，高浓度氢氧化钠清洗后载量只能达到初始载量的 50%左右。

2 样品准备

样品在上样前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，防止堵塞柱子。

3 样品纯化

3.1 重力柱纯化

3.1.1 装柱

- 1) 取一支空柱，将下垫片压制柱底部并压实，用去离子水冲洗垫片，待水从下出口流出后马上关闭下出口。
- 2) 将树脂悬浮起来，用枪取适量浆液加入柱中（保存液与填料比是 1: 1），打开下出口流干保护液。
- 3) 加入适量去离子水润洗柱料，待柱料流干后关闭下出口。
- 4) 装入上垫片，确保垫片与柱料无空隙，注意不可用力要垫片，防止损坏柱料。

3.1.2 平衡：用 5 倍柱体积的平衡/洗杂液进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同缓冲体系下。

3.1.3 上样：将样品加入平衡好的柱子中，样品保留至少 2min,保证样品和介质充分接触，可以多次上样增加结合效率。

【注】注意收集流出液，用于后续 SDS-PAGE 检测蛋白的结合情况。

3.1.4 平衡/洗杂：用 10 倍柱体积的平衡/洗杂液进行洗杂，去除非特异性结合的杂蛋白，收集洗杂液。

3.1.5 洗脱：再用 5 倍柱体积的洗脱液进行洗脱目的蛋白，分管收集。

3.2 中压层析柱纯化

3.2.1 装柱

- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1~2 cm 的去离子水。
- 2) 将树脂悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 3) 打开层析柱底部出口，开启泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水，标上柱床高度。

【注】在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%。

3.2.2 平衡：使用至少 5 倍柱床体积的平衡/洗杂液平衡色谱柱。

3.2.3 上样：利用泵或样品环上样。

注意: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。

3.2.4 平衡/洗杂：用平衡/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）。

3.2.5 洗脱：使用 5~10 倍柱体积的洗脱液洗脱，收集洗脱液，即目的蛋白组分。

4 填料再生和清洗

4.1 再生

4.1.1 洗脱剂为脱硫生物素

- 1) 5 倍柱体积的去离子水清洗柱子；
- 2) 15 倍柱体积的 1 mM HABA 的平衡液再生；
- 3) 30 倍柱体积平衡液清洗；

4.1.2 洗脱剂为 D-生物素

- 1) 5 倍柱体积的去离子水清洗柱子；
- 2) 15 倍柱体积的 1 M NaOH 再生；
- 3) 30 倍柱体积平衡液清洗；

4.2 保存

填料再生清洗后保存在等体积的保护液中，2~8°C 保存。

附表 1 Streptactin Agarose Resin 4FF 试剂耐受情况

试剂种类	浓度
还原剂	50 mM DTT 50 mM β -mercaptoethanol
去污剂	2% Triton TM X-100(nonionic) 2% Tween TM 20(nonionic) 0.1% CHAPS (zwitterionic)
其他类	2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 M CaCl_2