

# Streptactin 4FF Chromatography Column, 5 mL

## Strep(II) 标签蛋白纯化预装柱, 5 mL

### 产品简介

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。

Streptactin 4FF Chromatography Column 是一种以 Streptactin Agarose Resin 4FF 为填料的中压预装柱，规格 5 mL，该预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中压色谱系统，如 ÄKTA 等，方便客户操作。

### 产品信息

货号	20496ES08 / 20496ES25
规格	5 mL / 5×5 mL

### 产品性质

基质	高度交联的 4% 琼脂糖凝胶
配体	Streptactin
粒径	45-165 $\mu\text{m}$
载量	3-5 mg Twin Strep-Tag II 蛋白/mL 基质
最大流速	300 cm/h
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1×PBS

### 储存条件

2~8°C 保存，有效期 2 年。

### 使用说明

#### 1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  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, pH 7.4。

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: 平衡液中加入 1 mM HABA (洗脱剂为脱巯生物素) 或 1 M NaOH (洗脱剂为 D-生物素)。

#### 2 样品准备

样品在上样前建议用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤，防止堵塞柱子。

#### 3 样品纯化 (以 Akta 为例)

1) **准备:** 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子, 将层析柱连接至色谱系统中。再折断下口, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。

2) **清洗:** 3-5 倍柱体积去离子水冲洗层析柱中储存液。

3) **平衡:** 用 5 倍柱体积的平衡 Buffer 平衡层析柱, 使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下, 起到保护蛋白的作用。

4) **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。

5) **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)。

6) **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。

7) **清洗与保存:** 依次使用 3 倍柱体积的平衡 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料, 最后用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡, 然后保存在等体积的 20% 乙醇中, 置于 4°C 保存, 防止填料被细菌污染。

#### 4 SDS-PAGE 检测

将纯化过程中得到的样品 (包括原始样品、流出组分、洗杂及洗脱组分等) 利用 SDS-PAGE 进行检测, 判定其纯化效果。

#### 5 填料再生和清洗

##### 5.1 再生

###### 5.1.1 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 倍柱体积的含 1 mM HABA 的平衡液再生;
- 3) 30 倍柱体积平衡液清洗;

注: 脱硫生物素被黄色溶液 HABA 取代, HABA 一旦与 Streptactin 复合即变为红色。HABA 随后被平衡液除去, 柱子可被重复使用 10 次左右。

###### 5.1.2 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;

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。

##### 5.2 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。

#### 注意事项

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