

Streptavidin Agarose Beads 6FF (QS01014)

目录

一、	产品介绍.....	1
二、	溶液配置.....	1
三、	样品制备.....	1
四、	纯化流程.....	2
五、	清洗和再生.....	2
六、	常见问题.....	3
七、	订购信息.....	3

一、 产品介绍

Streptavidin Agarose Beads 6FF (QS01014) 是一种生物素或生物素化的蛋白、抗体等物质的纯化树脂，其作用原理是基于链霉亲和素与生物素之间的相互作用，将链霉亲和素高度交联于 6% 琼脂糖上，独特的制备工艺使其具有更高的物理化学特性，可以耐受更高的压力，在相对较高的流速下，实现对目的蛋白的纯化，更适于工业大规模蛋白的纯化。

由于链霉亲和素与生物素之间的亲和力很强，纯化时需要在变性条件下洗脱；而链霉亲和素对亚氨基生物素的亲和力相对较弱，可以在 pH 9.5-11.0 结合，pH 4.0 时洗脱，不需要使用变性剂，所以能更好的保持亲和素偶联物的活性。

表1、Streptavidin Agarose Beads 6FF产品特点

基质	6%高刚性琼脂糖
粒径范围	45-165 μ m
结合载量	>200 nmol Biotin/mL介质
流速	\leq 500cm/h
操作压力	\leq 0.3MPa
贮存溶液	20%乙醇
贮存温度	4-8 $^{\circ}$ C

二、 溶液配置

生物素或生物素化物质的纯化

结合/洗杂缓冲液：150 mM NaCl, 20 mM NaH₂PO₄, pH 7.4

洗脱缓冲液：8 M 盐酸胍, pH 1.5

亚氨基生物素标签物质的纯化

结合/洗杂缓冲液：50 mM 碳酸铵, 0.5 M NaCl, pH 10.0

洗脱缓冲液：50 mM 碳酸铵, 0.5 M NaCl, pH 4.0

三、 样品制备

样品在上样前最好用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤，减少杂质以防阻塞柱子。另外，确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用结合/洗涤缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用结合/洗涤缓冲液透析。

四、 纯化流程

4.1 Streptavidin Agarose Beads 6FF的装填（适用于各种中压色谱层析柱的装填）

- 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) 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口，开起泵，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，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。
【注】在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%，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。
- 5) 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器，去除储液器，将分配器至于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。
- 8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中，开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

4.2 样品纯化

- 1) 平衡：用 5 倍柱体积的结合 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。
- 2) 上样：将样品加到平衡好的层析柱中，保证目的蛋白与树脂充分接触，提高目的蛋白的回收率，收集流出液，待检测。
- 3) 洗杂：用 10-15 倍柱体积的洗杂缓冲溶液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液，待检测。
- 4) 洗脱：使用 5-10 倍柱体积的洗脱缓冲液，收集洗脱液，即目的蛋白溶液。
- 5) 清洗及保存：依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料，最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20% 的乙醇中，置于 4 度保存，防止填料被细菌污染。

4.3 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。

【注】由于盐酸胍的带电性强，会中和 SDS 的电荷，影响后面蛋白在上样缓冲液里的带电性能，电泳时产生沉淀，导致无法电泳。因此后续可以对样本进行透析或者盐析（透析可利用透析袋，PBS 作为透析液，透析两次，每次 1 小时，透析液的体积可控制在样本的 100 倍）。

五、 清洗和再生

随着非特异结合蛋白的增多和蛋白的聚集，会造成流速和结合载量性能下降，此时需对填料进行清洗。

1) 去除一些沉淀或变形物质

用 2 倍柱体积的 0.1 M NaOH 或 6 M 盐酸胍或 8 M 尿素溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS，pH 7.4 清洗。

2) 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质
用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 2 倍柱体积 1% Triton X-100 清洗, 然后立即用 5 倍柱体积的PBS, pH 7.4 清洗。

六、 常见问题

- 1) 请勿冷冻保存本产品。
- 2) 填料长期不用, 建议将其用20%乙醇储存于2-8℃条件下。

七、 订购信息

产品名称	货号
Streptavidin Agarose Beads 6FF	QS01014
Streptactin Agarose Beads 4FF	QS01015
Dextrin Agarose Beads 4FF	QS01013
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012
rProtein A/G Agarose Resins4FF	QS01011