

Streptactin XT Agarose Beads 4FF (QS01031)

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、	化学试剂耐受性.....	3
六、	常见问题.....	3
七、	订购信息.....	3

一、 产品介绍

Streptactin XT蛋白对 Strep-Tag II 和Twin Strep-tag II的亲和能力比链霉亲和素要强，且分离纯化条件温和，在生理条件下即可实现蛋白的分离纯化；此外，Strep-Tag II 为 8 个氨基酸的小标签（WSHPQFEK），由于标签小，仅为 1 kDa 左右，不影响融合后蛋白质的结构和功能。这些温和的纯化参数能保存蛋白质的生物活性，并仅经一步提取即可产出超过 99%的纯度。将 Streptactin XT蛋白共价偶联到琼脂糖微球表面，制备了一种专为高效、快速分离纯化Strep-tag II 蛋白的一种新型功能化材料，实现并搭建了提取速度、提取量及纯度兼得的蛋白纯化平台。

表1、Streptactin XT Agarose Beads 4FF产品特点

基质	4%高刚性琼脂糖
粒径范围	45-165 μ m
配基	Streptactin XT蛋白
配基密度	~5 mg /mL 填料
结合载量	~10 mg Strep-tag II 或 Twin-Strep-tag蛋白 /mL 填料
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

平衡/洗杂溶液：10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0

洗脱溶液：100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 5 mM biotin, pH 8.0

再生溶液：3 CV 纯水, 3 CV 50 mM NaOH, 3 CV 纯化

三、 样品制备

本产品手册提供以下三种样品的处理方法：

(1) 大肠杆菌、酵母等细胞内表达蛋白：表达细胞用适量 Binding Buffer 稀释，加入蛋白酶抑制剂（如终浓度为 1 mM 的 PMSF）；冰浴超声裂解细胞，即为粗蛋白样品。如果样品过于粘稠，可根据需要在粗样品中加入适量核酸酶，在冰上放置 30 min，以降解核酸。另外，如果目标蛋白含量较低，建议将粗蛋白样品进行离心操作。

(2) 胞外表达蛋白：取胞外表达上清，用等量 Binding Buffer 稀释平衡，即为粗蛋白样品。

(3) 动物细胞胞内表达蛋白：取适量动物细胞，用适量 PBS 洗涤 1 次，弃上清；用适量含 1% (v/v) Triton X-100 或 1% (v/v) NP-40 的 Binding Buffer 重悬；加入蛋白酶抑制剂（如终浓度为 1 mM 的 PMSF）；置于冰上 10 min，即为粗蛋白样

四、 纯化流程

以下方法仅供使用1ml预装柱的客户参考：

- 1、采用液滴对液滴（避免引入气泡）的方式将柱子连接到层析系统上。
- 2、用纯化水以1ml/min的流速冲洗5个CV。
- 3、用平衡液以1ml/min的流速冲洗10个CV。
- 4、将样品以0.3ml/min的流速上样。
- 5、用平衡液以1ml/min的流速冲洗至紫外吸收值平稳（10-15个CV）。
- 6、用洗脱液以1ml/min的流速洗脱10CV。
- 7、用纯化水以1ml/min的流速冲洗5个CV。
- 8、用20%乙醇以1ml/min的流速冲洗5个CV。

以下方法仅供使用重力柱的客户参考：

- 1、将装填好的重力柱用 5 倍柱体积平衡液进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲液体系下，重复 2-3 次。
- 2、将样品加到平衡好的重力柱中，可以反复上样增加结合效率。
- 3、用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行洗杂。
- 4、使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱，分段收集，可以得到高纯度和高浓度的蛋白。

以下方法仅供使用孵育法纯化的客户参考：

- 1、根据纯化样品量，取适量纯化介质加入离心管中，1000 rpm 离心 1 min，弃去清；也可加入重力柱中，流干保护液。
- 2) 向离心管中加入 5 倍介质体积的平衡液清洗介质，1000 rpm 离心 1 min，弃去上清。
- 3) 加入样品，封闭离心管或重力柱管，4℃振荡孵育 2-4 h 或者 37℃孵育 30 min-2 h。
- 4) 孵育结束后，1000 rpm 离心 1 min，弃上清，或过滤收集介质，上清保留作为流穿，用于电泳鉴定。
- 5) 用 5 倍介质体积的洗杂液清洗介质，1000 rpm 离心 1 min，去上清。
- 6) 加入 3-5 倍柱体积的洗脱液进行洗脱，室温孵育 5 min，1000 rpm 离心 1 min 或重力柱管收集洗脱液，可重复 2-3 次。

五、 化学试剂耐受性

试剂	浓度
氯化钠	5 M
氯化镁	1 M
EDTA	50 mM
β -巯基乙醇	45 mM
盐酸胍	4 M
尿素	6 M
吐温-20	2%
SDS	0.09%
甘油	25%
乙醇	10%
咪唑	250 mM

六、 常见问题

蛋白纯化流程的优化 以上操作流程适用于大部分 Strep-Tag II 标签蛋白的纯化，根据不同Strep-Tag II融合蛋白与填料的结合性能不同，用户可以从以下几个方面对纯化流程进行优化，以提高目标蛋白的回收率和纯度。

1. 提高目标蛋白回收率的参考方法：

- (1) 延长蛋白溶液与填料孵育的时间或者反复上样多次；
- (2) 添加合适的蛋白酶抑制剂，防止目标蛋白降解；
- (3) 增加填料用量；
- (4) 延长洗脱目标蛋白的时间或增加洗脱次数；

2. 提高目标蛋白纯度的参考方法：

- (1) 在纯化过程中添加合适的蛋白酶抑制剂，防止目标蛋白降解；
- (2) 延长洗涤的时间，增加洗涤次数；

七、 订购信息

产品名称	货号
Streptavidin Agarose Beads 6FF	QS01014
Streptactin Agarose Beads 4FF	QS01015
Streptactin XT Agarose Beads 4FF	QS01031
Dextrin Agarose Beads 4FF	QS01013
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012
rProtein A/G Agarose Resins4FF	QS01011