

Streptactin Agarose Beads 4FF (QS01015)

目录

一、	产品介绍.....	1
二、	溶液制备.....	1
三、	样品制备.....	1
四、	纯化流程.....	2
五、	再生和保存.....	3
六、	常见问题.....	3
七、	订购信息.....	3

一、 产品介绍

Streptactin 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 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 Agarose Beads 4FF产品特点

基质		
粒径范围		
结合载量		
流速		
操作压力		
贮存溶液		
贮存温度		

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: 2.5 mM desthiobiotin in Binding Buffer

再生溶液: 0.5 M NaOH 或1 mM HABA

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°C振荡孵育2-4 h 或者37°C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、再生和保存

(1) NaOH 再生：洗脱目的蛋白后的填料按照以下顺序进行洗涤：5~10 mL 纯化水洗涤3次、5~10 mL 0.5M NaOH 洗涤3次、5~10 mL 纯化水洗涤至中性，最后加入 10 mL 保存液，将磁珠放置 2~8°C 环境保存。

(2) HABA 再生：用脱巯生物素洗脱目标蛋白的填料还可以用 HABA 缓冲液再生，加入 5~10 mL 1mM HABA 洗涤填料 5 次，接着用 Binding Buffer 洗涤填料至填料本身颜色，每次洗涤 5 min，最后加入 10 mL 保存液，将磁珠放置 2~8°C 环境保存

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
Dextrin Agarose Beads 4FF	QS01013
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012
rProtein A/G Agarose Resins4FF	QS01011