

# Strep-Tactin Agarose FF

名称: Strep-Tactin Agarose FF

目录号: QYP1013A

规格: 1\*1ml

保护液: 20%乙醇-PBS

储存形式: 预装柱

储存温度: 4°C

## 相关介绍:

Strep-Tactin 琼脂糖凝胶 FF 是一种将 Strep-Tactin 键合在琼脂糖凝胶微球上形成的生物亲和层析分离介质, 主要用于纯化 Strep II 标签蛋白。Strep II 标签为 8 个氨基酸的小标签 (WSHPQFEK), 由于标签小, 仅为 1 kDa 左右, 一般不影响融合后蛋白质的结构和功能, 常用于融合表达蛋白质的检测和纯化。

本产品的配基 Strep-Tactin 是链霉亲和素 (Streptavidin) 的突变体, 与链霉亲和素相比, Strep-Tactin 对 Strep II 标签的亲和能力至少强 10 倍以上, 能够在温和的条件下与 Strep II 融合蛋白结合和解离。由于 Strep-Tactin 对 Strep II 标签具有高度特异性, 一般一步纯化就能获得高纯度的蛋白质样品。

Strep II 标签蛋白与凝胶结合后可使用脱硫生物素竞争方式进行洗脱, 该洗脱方式比较温和, 一般不会影响蛋白质的性质。如 Strep II 标签蛋白质能耐受碱性条件, 也可用碱液洗脱, 比如 10 mM NaOH 等。

Strep-Tactin 琼脂糖凝胶 FF 能耐受较高的碱性条件, 可以用 0.5 M NaOH 进行再生清洗和去除热源等。

另外, 2-(4-羟基苯唑)苯甲酸 (HABA) 也可用于凝胶再生, 过量的 HABA 能以竞争的方式替换脱硫生物素, 但在无 HABA 的缓冲液中, Strep-Tactin 与 HABA 会发生解离, 从而使 HABA 脱落, 实现再生。

## 使用方法:

### 1 推荐缓冲液

纯化 Strep II 标签蛋白

结合缓冲液: 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0;

或 20 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 280 mM NaCl, 6 mM KCl, pH 7.4

洗脱缓冲液: 结合缓冲液 + 2.5 mM 脱硫生物素;

或 10 mM NaOH

再生缓冲液: 0.5 M NaOH;

或结合缓冲液+1 mM HABA

## 2 样品准备

上柱的样品应尽量保持与结合缓冲液一致。通常可用透析、超滤、稀释等方法处理样品。并且上柱前应过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜或高速离心去除不溶物。

## 3 样品纯化

**3.1 平衡：**取适量的 Strep-Tactin 琼脂糖凝胶 FF 装入合适的层析柱中，用蒸馏水清洗 5 个柱体积去除保存液，再用结合缓冲液平衡 5 个柱体积，建议流速为 100 cm/h。

**3.2 上样：**将准备好的样品上柱，建议流速为 20~100 cm/h，可根据实际结合情况选择流速，能获得较好的效果。

**3.3 再平衡：**上样后用结合缓冲液平衡 10 个柱体积以上，或平衡至基线，洗去杂质，推荐流速为 100 cm/h。

**3.4 洗脱：**用洗脱缓冲液洗 10~20 个柱体积，建议流速为 100 cm/h，收集的洗脱液应立即调节 pH 至稳定范围，并根据需要置换缓冲液。

**3.5 NaOH 再生：**洗脱目的蛋白后的柱子用蒸馏水清洗 3~5 个柱体积，并用 0.5 M NaOH 再生 3~5 个柱体积，再用蒸馏水清洗至中性，用 20%乙醇保存柱子，或进行下一次纯化。

**3.6 HABA 再生：**用脱硫生物素洗脱目的蛋白的，还可以用 HABA 缓冲液再生，一般用 HABA 的结合缓冲液洗 15 个柱体积，再用结合缓冲液洗 30 个柱体积，然后可以用 20%乙醇保存柱子，或进行下一步纯化。HABA 上柱后凝胶颜色会变为红橙色，在结合缓冲液平衡后会恢复正常的白色，这种再生方式一般使用体积会大些。

### 技术指标：

基质	4%琼脂糖凝胶微球
配基	Strep-Tactin
配基密度	$\geq 5$ mg/ml
填料粒径	60 ~ 180 $\mu\text{m}$
最大流速	800 cm/h
推荐流速	20 ~ 100 cm/h
pH 稳定性	短时间 pH 2 ~ 13 ; 长时间 pH 4 ~ 11
耐反压	0.3 MPa
载量	$\geq 6$ mg/ml Strep II 标签蛋白