

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 NaH₂PO₄, 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 μm 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 | ≥ 5 mg/ml |
| 填料粒径 | 60 ~ 180 μm |
| 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 | ≥ 6 mg/ml Strep II 标签蛋白 |