

易洗脱链霉亲和素琼脂糖凝胶 FF

名: 易洗脱链霉亲和素琼脂糖凝胶 FF(Easy Elution Streptavidin SePharose Fast Flow, ee-SA SePharose FF, ee-SA FF)

目录号: BN26339 (中压预装柱)、BN26340 (重力预装柱)

贮 存: 20%乙醇, 2-8℃

运 输: 2-8℃, 常压、避光

保质期:3年

相关介绍:

易洗脱链霉亲和素琼脂糖凝胶 FF 是一种将易洗脱链霉亲和素键合在琼脂糖凝胶微球上形成的生物亲和层析分离介质。与链霉亲和素琼脂糖凝胶 FF 相比,该介质最主要的特性是可以温和洗脱结合在介质上的生物素化物质,如生物素化抗原、生物素化抗体、生物素化蛋白、生物素化核酸等,可用于 AviTag 融合表达的生物素化蛋白纯化、经过标记反应后的生物素化和非生物素化物质的分离、生物素化抗原抗体固定化和重复回收利用等。

由于链霉亲和素与生物素的超强亲和力,它们常用于检测、诊断、分析等领域,但 其超强的结合能力导致温和常用的方法都不能将其复合物解离,由于这特特性限制了它 们在生物纯化方面的大范围应用,本介质的配基经过分子层面的设计改造,大幅降低与 生物素的亲和力,同时保持了高度特异性,所以一步层析就可获得有活性、高纯度的生 物素化物质。

与生物素化物质结合后的 ee-SA FF 可通过含 D-生物素的缓冲液竞争洗脱。该洗脱方式非常温和,一般不会影响目标物的活性,洗脱液中的 D-生物素可通过换液方式去除。

技术指标:

基质	4%琼脂糖凝胶
配基	Easy Elution Streptavidin
配基密度	≥6mgl/ml
填料粒径	60~180 μm
最大流速	800 cm/h
推荐流速	50-100 cm/h
pH 稳定性	pH4-10(工作),pH 3~13(再生)
耐反压	0.3 MPa
载量	≥5 mg Biotin-MBP/ml

使用方法:

1、色谱柱装填



- (1) 所有需要用到的材料的温度要与色谱操作的温度一样,液体最好做脱气处理。
- (2) 在柱子下端加入蒸馏水,以除去柱子中的空气,关闭柱子出口,在柱内保留少量的蒸馏水。
- (3)将琼脂糖凝胶连续倒入柱子时,要用玻璃棒的紧靠柱子内壁引流,以减少气泡的产生,让填料先自然沉降。
 - (4) 柱压不超过 0.3MPa, 如果装柱系统中无法测柱压,则正常流速下填装。
- (5) 填装好的 ee-SA FF 柱用 2-5 个柱体积的结合缓冲溶液平衡,建议流速 100cm/h,平衡后的柱子可以用于生物素化蛋白、生物素化抗原抗体等生物素化物质的亲和纯化。2、上样
- (1) 缓冲液选择: 一般选用 pH6-8 的结合缓冲液,常用缓冲液有 10-00mM 磷酸钠缓冲液、20-200mM Tris-HCl 缓冲液等,根据样品的稳定性,也可添加其他成分,如 NaCl、还原剂、螯合剂等。在初次使用 ee-SA FF 时,推荐使用 20mM PBS(20 mM NaH₂PO₄,0.15M NaCl,NaOH 调节 pH 7.4)或 20mM Tris-HCl,0.15MNaCl,pH8.0 作为结合缓冲液。
- (2) 样品处理: 样品的缓冲液应与所选结合缓冲液一致。为保证缓冲液一致,可以在结合缓冲液中破碎细菌、或调解 pH 与结合缓冲液一致、或交换至结合缓冲液(常用方法有透析、超滤、脱盐柱换液等)、或用结合缓冲液稀释 2-10 倍等。样品上柱前应 0.45μm 过滤。
- (3) 上样流速: 一般线性流速 20-100cm/h 均可。

3、洗脱

结合了生物素化物质的 ee-SA FF 可采用温和的方式洗脱,一般在结合缓冲液中加入 1-5mM 的 D-生物素作为洗脱缓冲液,通过竞争的方法洗脱。

4、在位清洗

- (1)多次使用后需要再生,本产品耐受一定的碱性,推荐使用 2-5 个柱体积的 20-100mM NaOH 溶液反向清洗柱子,进行再生。
 - (2) 其他方法,比如 1-2M NaCl、70% 乙醇、30% 异丙醇等,也可用于该介质的再生。