

## Strep-Tactin 琼脂糖凝胶 FF

**品 名:** Strep-Tactin 琼脂糖凝胶 FF(Strep-Tactin Pharose Fast Flow, Strep-Tactin Pharose FF)

**目 录 号:** BN26327 (中压预装柱)、BN26328(重力预装柱)

**规 格:** 1 ml 预装柱, 5 ml 预装柱

**贮 存:** 20%乙醇, +2-8°C

**运 输:** 2-25°C, 常压、避光

**保 质 期:** 3 年

### 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 1kDa 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。考虑到成本原因, *Strep II* 标签蛋白质也可用酸性或碱性洗脱液进行洗脱, 比如 0.1M Gly-HCl(pH3.0)、0.1M Na<sub>2</sub>HCO<sub>3</sub>(pH12)、10mM NaOH 等。

Strep-Tactin 琼脂糖凝胶 FF 能耐受较高的碱性条件, 可以用 0.5M 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。

### 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 pH2-13; 长时间 pH 4~11
耐反压	0.3 MPa
载量	≥6 mg/ml <i>Strep II</i> 标签蛋白

本产品仅用于科研

## 使用方法:

### 1 推荐缓冲液

#### 纯化 Strep II 标签蛋白

结合缓冲液: 100mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 1mM EDTA, pH8.0;

或 20mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 280mM NaCl, 6mM KCl, pH7.4

洗脱缓冲液: 结合缓冲液 + 2.5mM 脱巯生物素;

或 0.1M Glycine-HCl, pH3.0

或 0.1M Na<sub>2</sub>HCO<sub>3</sub>, pH12.0

或 10mM NaOH

再生缓冲液: 0.5M NaOH;

或结合缓冲液+1mM 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 0.45μm 滤膜或高速离心去除不溶物。

### 3 样品纯化

(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 100cm/h。

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

(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 100cm/h。

(4) 洗脱: 用洗脱缓冲液洗 10-20 个柱体积, 建议流速为 100cm/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。

(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 0.5M 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。

(6) HABA 再生: 用脱巯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。