版本号：202501V00

STarm Streptactin Beads 4FF
Strep-Tag II 标签蛋白琼脂糖纯化凝胶（耐生物素）

Cat. No. CW8308

产品简介

Strep-tag是一种在蛋白纯化系统中应用广泛的亲和标签。它包括两种类型Strep-tagII和TwinStrep-tagII。Strep-tag II是一个短肽标签，由8个氨基酸（WSHPQFEK）组成，可以作为N端或C端标签与蛋白质融合，对重组蛋白的影响很小。进一步改进的Twin Strep-tagII是一个顺序排列的两个Strep-tagII序列（通过内部氨基酸连接），该标签能够像Strep-tagII一样进行温和、快速的纯化。这两个标签可以自由结合Streptactin和STarm Sterptactin中的任一配体。标签/配体的结合取决于所需的结合强度和应用。这两个标签和Streptactin和STarmSterptactin 在μg/mL范围内有较高亲和性。此外，这种结合标签和配体的灵活性允许在生理条件下纯化重组蛋白。

Strep-tag 标记技术可用于从各种表达系统中纯化功能性链球菌标记蛋白，包括杆状病毒、哺乳动物细胞、酵母和细菌。该技术可耐受不同的缓冲条件和添加剂(高盐、洗涤剂、还原剂、金属离子和螯合剂)，普遍适用于大部分蛋白质性质，而且方便于蛋白质和蛋白质质检相互作用分析。一般来说，上述两种标签都不干扰目标蛋白的折叠或生物活性，不与重金属离子反应，不具有离子交换特性，也不会引起蛋白质聚集。因此，纯化后无需去除Strep-tagII和TwinStrep-tagII。此外，Twin Strep-tagII/STarm Sterptactin组合适用于固定化和检测分析应用，如ELISA或SPR。这种多功能性使得Strep-tag标记技术优于其他可用的基于标记的亲和纯化系统。

STarm Streptactin Beads 4FF 的配体蛋白是Streptactin 的突变体，其偶联至高度交联的4%琼脂糖微球上。样品中低浓度(50 μmol/L)的D-生物素不会影响目的蛋白和STarm Streptactin Beads 4FF的结合效果。该产品在使用后可用平衡液再生，或者使用10 mM NaOH进行一定程度的清洗。STarm Streptactin Beads 4FF具有较高的耐受性，可以多次使用。

保存条件

2-8℃保存

产品内容

Component	CW8308T	CW8308M
STarm Streptactin Beads 4FF	2 mL	10 mL

产品参数

项目	性能
基质	4% 琼脂糖微球
配体	Streptactin Mutant
载量	4mg Twin Strep-tag II蛋白/ml介质
粒径	45-165 μm
最大流速	300cm/h
储存缓冲液	含20%乙醇的1XPBS

产品耐受性

试剂种类	接触时间
6M 盐酸胍 8M 尿素 2 M NaCl	2小时
50 mM DTT 50 mM β-巯基乙醇 1 mM TCEP 0.1% SDS 2% 曲拉通X-100 2% 吐温 20 0.25 M 咪唑 25% 甘油 1 M $(NH_4)2SO_4$ 0.1 M $MgCl_2$ 0.1 M $CaCl_2$	1小时

注意事项： 本产品仅限科研使用。

操作步骤

1. 缓冲液准备

   所用水和缓冲液在使用之前建议用0.22μm或0.45μm滤膜过滤。

   平衡/洗杂液:100mMTris-HCl，150mMNaCl，1mMEDTA，pH8.0

   或PBS：10mMNa2HPO4，2mMKH2PO4，136mMNaCl，2.6mMKCl，pH7.4

洗脱液: 平衡液中加入1-5mM D-生物素

再生液: 10 mM NaOH

注意: D-生物素与Streptactin结合非常紧密, 高浓度氢氧化钠清洗后载量只能达到初始载量的50%左右。

2. 样品准备

样品在上样前建议离心或用0.22 μm或0.45 μm滤膜过滤, 减少杂质, 提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

3. Streptactin Beads 4FF装填

3.1 重力柱装填

1) 取合适规格的重力层析柱, 装入下垫片, 加入适量纯水润洗柱管和垫片, 关闭下出口。

2) 将Streptactin Beads 4FF混合均匀, 用枪头吸取适量浆液加入至重力柱中 (介质实际体积占悬液的一半) , 打开下出口流干保护液。

3) 加入适量纯水冲洗介质, 待柱管中液体重力流干后, 关闭下出口。

4) 装入润洗后的上垫片, 确保垫片与填料之前没有空隙, 且保持水平。

5) 装填好的重力柱可以直接加入平衡液进行平衡, 暂不使用时则加入保护液, 2-8℃保存。

3.2 中压层析柱的装填

Streptactin Beads 4FF被应用于工业纯化时, 涉及到各种中压色谱层析柱的填装, 下面介绍填装层析柱的方法。

1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头, 确保柱底筛板上无气泡, 关闭柱底出口, 并在柱底部留出1-2cm的去离子水。

2) 将介质悬浮起来, 小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。

3) 如果使用储液器, 应立即在层析柱和储液器中加满水, 将进样分配器放置于浆液表面, 连接至泵上, 避免在分配器或进样管中产生气泡。

4) 打开层析柱底部出口, 开启泵, 使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱, 然后缓慢增加至最终流速, 这样可避免液压对所形成柱床的冲击, 也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速, 可以用你所使用泵的最大流速, 这样也可以得到一个很好的装填效果。(注意: 在随后的色谱程序中, 不要超过最大装柱流速的75%) 当柱床高度稳定后, 在最后的装柱流速下至少再上3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。

5) 关闭泵, 关闭层析柱出口。

6) 如果使用储液器, 去除储液器, 将分配器置于层析柱中。

7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器, 锁紧分配器接头。

8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中, 开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

4. 样品纯化

4.1 孵育法纯化

1) 根据纯化样品量, 取适量STarm Streptactin Beads 4FF加入离心管中, 1000 rpm离心1 min, 吸弃上清; 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, 吸弃上清; 如使用重力柱, 则直接在重力柱中清洗, 直接重力流干平衡液; 重复两次以上。

3) 加入样品, 封闭离心管或重力柱管, 4℃振荡孵育2-4 h或者37℃孵育30 min-2 h。

4) 孵育结束后, 1000 rpm离心1 min, 吸弃上清, 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或重力柱管过滤, 去除上清 (注意不要吸到介质) , 重复3-5次, 中间建议更换新离心管。

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。

4.2 重力柱法纯化

1) 将装填好的STarm Streptactin Beads4FF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, 样品保留时间至少2 min, 保证样品和介质充分接触, 收集流出液, 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, 去除非特异性吸附的杂蛋白, 收集洗杂液。

4) 使用5-10倍柱体积的洗脱液洗脱, 分段收集, 每一个柱体积收集一管, 分别检测, 既可以保证所有结合的目的蛋白被洗脱, 又可以得到高纯度和高浓度的蛋白。

4.3 中压层析柱法纯化

STarm Streptactin Beads 4FF 装填好后, 可以用各种常规的中低压色谱系统。

1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子, 将层析柱连接至色谱系统中, 打开下出口, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。

2) 用3-5倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液。

3) 使用至少5倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。

4) 利用泵或样品环上样。注: 样品的粘度增加使得即使上样体积很少, 也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压, 使得进样器更难使用。

5) 用洗杂液冲洗柱子, 直到紫外吸收达到一个稳定的基线 (一般至少10-15个柱体积) 。

6) 使用5-10倍柱体积的洗脱液洗脱, 收集洗脱液, 即目的蛋白组分。

介质洗脱结束后, 用平衡液冲洗5-10柱体积, 然后用纯水冲洗5-10个柱体积, 再用20%乙醇冲洗2个柱体积, 置于2-8℃保存。

5. 填料保存

STarm Streptactin Beads 4FF 每次使用后都应进行一次再生, 去除结合在介质上的D-生物素, 以确保结果的一致性, 具体操作:

3倍柱体积的去离子水;

5-10倍柱体积的10 mMNaOH溶液;

3倍柱体积去离子水, 20%乙醇2-8℃保存。

6. 原位清洗

STarmStreptactinBeads4FF多次使用后会出现非特异性蛋白结合增多和蛋白聚集等现象, 往往造成流速和载量都下降, 这时可按照下面方法对介质进行清洗:

3倍柱体积的去离子水;

5-10倍柱体积的0.1 MNaOH溶液;

3倍柱体积去离子水, 20%乙醇2-8℃保存。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其他用途

技术支持：service@cwbiotech.com 网址：www.cwbio.com