



Streptactin Magrose Beads

Strep-Tag II 蛋白纯化磁珠

Cat. No. CW8313

产品简介

Strep-Tag系统是模拟链霉亲和素-生物素系统的新型蛋白纯化系统，Strep-Tactin对Strep-Tag II的亲和能力与链霉亲和素相比，至少强10倍以上，且分离纯化条件温和，在生理条件下即可实现蛋白的分离纯化；此外，与其他tag相比，Strep-Tag II为8个氨基酸的小标签（WSHPQFEK），由于标签小，仅为1 kDa左右，不影响融合后蛋白质的结构和功能。这些温和的纯化参数能保存蛋白质的生物活性，并仅经一步提取即可产出超过99%的纯度。Strep-Tag II蛋白纯化磁珠采用特殊的蛋白偶联工艺，将Strep-Tactin蛋白共价偶联到超顺磁性磁珠表面，制备了一种专为高效、快速分离纯化Strep-tag II蛋白的一种新型功能化材料，实现并搭建了提取速度、提取量及纯度兼得的蛋白纯化平台。

保存条件

2-8℃长期保存，可在室温（10-30℃）暂存；禁止产品冻结，长期存放请保证试剂管竖立向上，磁珠浸没于保护液中。

产品内容

Component	CW8313S
Streptactin Magrose Beads	5 mL

产品内容

项目	性能
配基含量	~6 mg Strep-Tactin /mL Gel
融合蛋白结合量	~7 mg Strep-tag II蛋白 /mL Gel
悬液浓度	10% (V/V) 磁珠悬液
粒径	30-150 μm
保存液	1×PBS,含 0.1%Tween-20,含 0.1% Proclin 300
Binding/Washing Buffer	10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA,含 0.03% Proclin 300, pH 8.0
Elution Buffer	2.5 mM desthiobiotin in Binding Buffer
Regeneration Buffer	0.5 M NaOH or 1 mM HABA in Binding Buffer

注意事项

1. 禁止产品冻结，长期存放请保证试剂管竖立向上，磁珠浸没于保护液中。
2. 磁珠使用和保存过程中应避免冷冻、干燥和高速离心等操作。
3. 在使用本产品前，请务必充分振荡使磁珠保持均匀的悬浮状态。
4. 磁珠与溶液混合过程中，如果溶液粘稠无法通过翻转离心管重悬磁珠，可采用移液器反复吹吸或短时漩涡混合使磁珠充分重悬。
5. 根据实际需要保留经磁性分离移去的上清液，进行取样检测，以便分析纯化过程和优化蛋白纯化流程。
6. 本产品可以重复使用，重复使用时，建议纯化同种蛋白，纯化不同种类的蛋白时，建议使用新的磁珠，以防交叉污染。
7. 本产品仅限科研使用。

操作步骤

目标蛋白与磁珠的结合性能将直接影响目标蛋白的纯化效率，各种缓冲液配制也将一定程度上影响目标蛋白的回收率和纯度。用户可根据自己蛋白的特性自行设计和优化蛋白纯化流程。

1. 缓冲液准备

Binding/Washing Buffer : 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0

Elution Buffer: 2.5 mM desthiobiotin in Binding Buffer

2. 样品准备

大肠杆菌、酵母等细胞内表达蛋白: 表达细胞用适量Binding Buffer稀释, 加入蛋白酶抑制剂 (如终浓度为1 mM的PMSF); 冰浴超声裂解细胞, 即为粗蛋白样品。如果样品过于粘稠, 可根据需要在粗样品中加入适量核酸酶, 在冰上放置30 min, 以降解核酸。另外, 如果目标蛋白含量较低, 建议将粗蛋白样品进行离心操作。

胞外表达蛋白: 取胞外表达上清, 用等量Binding Buffer稀释平衡, 即为粗蛋白样品。动物细

胞内表达蛋白: 取适量动物细胞, 用适量PBS洗涤1次, 弃上清; 用适量含1% (V/V) Triton X-100或1% (V/V) NP-40的Binding Buffer重悬; 加入蛋白酶抑制剂 (如终浓度为1 mM的PMSF); 置于冰上10 min, 即为粗蛋白样品。

3. 磁珠预处理

一般情况下, 磁珠的使用量是由用户根据目标蛋白产量和磁珠载量信息计算获得。例如: 采用大肠杆菌表达某目标蛋白, 250 mL发酵液收获1 g湿重的菌体, 通过预实验估算其目标蛋白产量为~7 mg, 用户需要取10 mL 10%的磁珠悬液用于目标蛋白的纯化。以下即以此为例进行详细说明:

1) 将磁珠产品置于漩涡混匀器上充分混匀, 用移液器取10 mL磁珠悬液于离心管中;

2) 将离心管置于磁性分离器上, 待溶液变澄清后, 移去上清液;

3) 加入5~10 mL Binding Buffer/Washing Buffer到上述装有磁珠的离心管中, 盖紧盖子, 漩涡振荡15 s, 使磁珠重新悬浮。将离心管置于磁性分离器上, 磁性分离*, 移去上清液, 重复洗涤2次。

***注意:** 在磁性分离过程中, 为了减少磁珠在使用过程中的损耗, 待溶液变澄清后, 盖紧离心管盖子, 保持离心管仍在磁性分离器上, 手持磁性分离器与离心管上下翻转数次, 使澄清的溶液涮洗离心管盖上残留的磁珠, 静置片刻, 使溶液重新变澄清; 以下同。

4. 目标蛋白与磁珠结合

1) 将粗蛋白样品转移到装有已预处理磁珠的离心管中, 盖紧离心管盖;

2) 将离心管置于漩涡混匀器振荡15 s, 然后将其置于垂直混合仪上, 室温垂直混匀30 min (如果需要, 可在2~8℃的低温环境下旋转混合约1 h, 防止目标蛋白降解);

3) 将离心管置于磁性分离器上进行磁性分离, 移出上清液到新的离心管中以备后续检测。从磁性分离器上取下离心管进行下一步洗涤步骤。

5. 磁珠洗涤

- 1) 将步骤4的磁珠中加入5~10 mL Washing Buffer, 漩涡混合2 min, 磁性分离, 移出清洗液到新的离心管中, 以备取样检测;
- 2) 继续将上述磁珠中加入5~10 mL Washing Buffer, 漩涡混合2 min, 使磁珠重新悬浮, 将磁珠悬液转移至新的离心管, 避免原离心管壁上非特异性吸附蛋白污染目标蛋白; 磁性分离, 移出上清液到收集管, 以备取样检测;

6. 目标蛋白洗脱

- 1) 加入2~5 mL Elution Buffer (用户可根据需要改变洗脱体积调整目标蛋白浓度) 于离心管中, 盖紧离心管盖, 然后将离心管置于垂直混合仪上, 室温垂直混合洗脱10 min; 磁性分离, 收集洗脱液到新的离心管中, 即为纯化的目标蛋白样品;
- 2) 如果需要, 可以重复上述步骤1次, 收集样品到新的离心管中, 以检测目标蛋白是否洗脱完全。

7. 磁珠再生和保存

- 1) NaOH再生: 洗脱目的蛋白后的磁珠按照以下顺序进行洗涤: 5~10 mL纯化水洗涤3次、5~10 mL 0.5M NaOH 洗涤3次、5~10 mL纯化水洗涤至中性, 最后加入10 mL保存液, 将磁珠放置2~8℃环境保存。
- 2) HABA再生: 用脱疏生物素洗脱目标蛋白的磁珠还可以用HABA缓冲液再生, 加入5~10 mL 1mM HABA洗涤磁珠5次, 接着用Binding Buffer洗涤磁珠至磁珠本身颜色, 每次洗涤5 min, 最后加入10 mL保存液, 将磁珠放置2~8℃环境保存。

蛋白纯化流程的优化

根据目标蛋白与Strep-Tactin蛋白纯化磁珠的结合性能不同, 可以从以下几个方面对纯化流程进行优化, 以提高目标蛋白的回收率和纯度。

1. 提高目标蛋白回收率的参考方法

- 1) 延长蛋白溶液与磁珠孵育的时间;
- 2) 添加合适的蛋白酶抑制剂, 防止目标蛋白降解;
- 3) 增加磁珠用量;
- 4) 延长洗脱目标蛋白的时间或增加洗脱次数;

2. 提高目标蛋白纯度的参考方法

- 1) 在纯化过程中添加合适的蛋白酶抑制剂, 防止目标蛋白降解;
- 2) 延长洗涤的时间, 增加洗涤次数;