Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球预装柱

1. 产品介绍

Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球 可用于从任何表达系统包括杆状病毒、哺乳动物细胞、酵母和细菌中纯化 Strep-tag II 和 Twin Strep-tag II 蛋白。 Strep-tag II 是一个由 8 个氨基酸（Trp-Ser-His-Pro-Gln- Phe-Glu-Lys）构成的短序列，对重组蛋白的影响可以忽略不计，因此无需去除该 tag。Streptactin 是最稳定的蛋白之一，其偶联至高度交联的 4%琼脂糖微球上，使得融合蛋白在生理条件下亲和纯化，保证了蛋白质的生物活性。具体性能见表 1。**Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球** 具有较高的耐受性，可以多次使用，见表 2。

Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球预装柱 是一种中低压预装柱，填装 Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中低压色谱系统，如 ÄKTA 等，方便客户操作。

表 1. **Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球预装柱** 产品性能

项目	性能
基质	高度交联的 4%琼脂糖微球
配体	Streptactin
载量	3-5mg Twin Strep-tag II 蛋白/ml 介质
粒径	45-165μm
最大流速	300cm/h
储存缓冲液	含 20%乙醇 1XPBS
储存温度	2 - 8℃

表 2. **Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球预装柱** 耐受性

试剂	浓度
Reduction Agents	
DTT	50 mM
β-mercaptoethanol	50 mM
Non-Ionic Detergents	
C_8E_4 Octyltetraoxyethylene	Max.0.88%
$C_{10}E_5$; Decylpentaoxyethylene	0.12%
$C_{10}E_6$	0.03%
$C_{12}E_8$	0.005%
$C_{12}E_9$; Dodecyl nonaoxyethylene (Thesit)	0.023%
DM; Decyl-β-D-maltoside	0.35%
LM; N-dodecyl β-D-maltoside	0.007%
NG; N-nonyl-β-D-glucopyranoside	0.2%
OG; N-octyl-β-D-glucopyranoside	2.34%
TX; Triton X-100	2%
Tween 20	2%
Ionic Detergents	
N-lauryl-sarcosine	2%
8-HESO;N-octyl-2-hydroxy-ethylsulfoxide	1.32%
SDS; Sodium-N-dodecyl sulfate	0.1%
Zwitter-Ionic Detergents	
CHAPS	0.1%
DDAO; N-decyl-N,N-dimethylamine-N-oxide	0.034%
LDAO; N-dodecyl-N,N-dimethylamine-N-oxide	0.13%

其它	
Ammonium sulfate $(NH_4)_2SO_4$	2M
$CaCl_2$	Max.1M
Ethanol	10%
EDTA	50mM
Guanidine	Max.1M
Glycerol	Max.25%
Imidazole	Max.250mM
$MgCl_2$	1M
NaCl	5M
Urea	Max.1M

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

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: 100 mM Tris-HCl，150 mM NaCl，1 mM EDTA，pH8.0

或 PBS：20 mM sodium phosphate，280 mM NaCl，6 mM potassium chloride，pH7.4

洗脱液: 平衡液中加入 2.5 mM 脱硫生物素或 D-生物素

再生液：1M NaOH 或平衡液中加入 1mM HABA

注：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。

2.2 样品准备

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

2.3 样品纯化

Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球预装柱 是一种用于 Strep-tag II 和 Twin Strep-tag II 标签蛋白的亲和预装柱产品，可以用各种常规的中低压色谱系统，以 ÄKTA 仪器使用为例介绍 **Strep-tag II 标签蛋白纯化琼脂糖微球预装柱**使用方法。

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。再折断下口，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存储缓冲液。
3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。5 ml 预装柱推荐流速为 3 ml/min。
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) 用 5-10 倍柱体积洗脱液洗脱。
7) 依次使用 3 倍柱体积的平衡液和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料，最后再用 5 倍柱体积的 20%的乙醇平衡，然后保存在 20%的乙醇中， 置于 2-8℃，防止填料被细菌污染。

2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 填料再生和清洗

再生：洗脱液为脱硫生物素时，用 5 倍柱体积（CV）的去离子水清洗，用 15 倍柱体积的含 1mM HABA 的平衡液再生，然后用 30 倍柱体积的平衡液清洗。脱硫生物素被黄色溶液 HABA 取代，后者一旦与 Streptactin 复合即变为红色。HABA 随后被平衡液除去，柱子可被重新使用。

洗脱液为 D-生物素时，用 5 倍柱体积（CV）的去离子水清洗，用 15 倍柱体积的 1M NaOH 再生，然后用 30 倍柱体积的平衡液清洗。

注：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%。

保存：填料再生清洗后保存在等体积的保护液中，置于 2-8℃保存，防止填料被细菌污染。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！