



PreCap Streptavidin ST

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	2
3. 填料再生和清洗.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	3

1. 产品介绍

Streptavidin ST Beads 4FF 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* 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。Streptavidin ST 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。**Streptavidin ST Beads 4FF** 具有较高的耐受性, 可以多次使用, 见表 2。

PreCap Streptavidin ST 是一种中低压预装柱, 有 1 ml 和 5 ml 两种规格, 分别填装 1 ml 和 5 ml **Streptavidin ST Beads 4FF**。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. PreCap Streptavidin ST 产品性能

项目	性能
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	Streptavidin ST
载量	3-5 mg Twin Strep-tag II 蛋白/ml 介质
粒径范围	45-165 μ m
最大流速	300 cm/h
储存缓冲液	含 20 % 乙醇的 1XPBS
储存温度	2 - 8 $^{\circ}$ C

表 2. Streptavidin ST Beads 4FF 耐受性

试剂	浓度
Reduction Agents	
DTT	50 mM
β -mercaptoethanol	50 mM
Non-Ionic Detergents	
C ₈ E ₄ Octyltetraoxyethylene	Max. 0.88 %
C ₁₀ E ₅ ; Decylpentaoxyethylene	0.12 %
C ₁₀ E ₆	0.03 %
C ₁₂ E ₈	0.005 %
C12E9; 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 %





表 2. Streptavidin ST Beads 4FF 耐受性 (续)

其它	
Ammonium sulfate (NH ₄) ₂ SO ₄	2 M
CaCl ₂	Max.1 M
Ethanol	10%
EDTA	50 mM
Guanidine	Max.1 M
Glycerol	Max.25 %
Imidazole	Max.250 mM
MgCl ₂	1 M
NaCl	5 M
Urea	Max.1 M

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 0.22 μm 或 0.45 μm 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

再生液: 平衡液中加入 1 mM HABA

注: 当样品中存在游离生物素时, 需透析后实验, 避免影响填料二次使用。

2.2 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。

2.3 样品纯化

PreCap Streptavidin ST 是一种用于 Strep-tag II 和 Twin Strep-tag II 标签蛋白的亲亲和预装柱产品, 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 **PreCap Streptavidin ST** 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。1 ml 预装柱推荐流速为 1 ml/min, 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: 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 Streptavidin ST 复合即变为橘红色或红色。HABA 随后被平衡液除去, 柱子可被重新使用。

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。





4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Streptavidin ST Beads 4FF	SA053005	5 ml
	SA053025	25 ml
	SA053100	100 ml
	SA053500	500 ml
	SA05301L	1 L
	SA05310L	10 L
PreCap Streptavidin ST	SA053C11	1X1 ml
	SA053C51	5x1 ml
	SA053C15	1X5 ml
	SA053C55	5X5 ml
	SA053CS	3X1 ml+1X5 ml

