

Streptavidin 高速层析介质 (6FF)

Streptavidin Beads 6FF

货号	规格
BDTL0014-5	5ml

1. 产品介绍

Streptavidin 高速层析介质 (6FF) 利用生物素与链霉亲和素配体之间的相互作用纯化生物素或生物素化的蛋白、抗体等物质。链霉亲和素与生物素之间的亲和力很强，需要在变性条件下洗脱，链霉亲和素对亚氨基生物素的亲和力相对较弱，可以在 pH9.5-11.0 结合，pH4.0 时洗脱，不需要使用变性剂所以能更好的保持亲和素偶联物的活性。Streptavidin 高速层析介质 (6FF) 采用高交联的 6% 琼脂糖介质，可耐受较高的流速及化学稳定性，适合大规模纯化。具体性能见表 1。

表 1. Streptavidin 高速层析介质 (6FF) 产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 6% 琼脂糖微球
配体	链霉亲和素
载量	>300nmol /ml 介质
粒径 (μm)	45-165
最大流速	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	2-10
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	2-8°C

2. 纯化流程

2.1 Buffer 的准备

所用水和 Buffer 在使用之前建议用 0.22μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

生物素或生物素化物质的纯化

- 结合/洗杂 Buffer: 20mM NaH₂PO₄, 0.15M NaCl, pH7.4
- 洗脱 Buffer: 8M 盐酸胍, pH1.5

亚氨基生物素标签物质的纯化

- 结合/洗杂 Buffer: 50mM 碳酸铵, 0.5M NaCl, pH10.0
- 洗脱 Buffer: 50mM 碳酸铵, 0.5M NaCl, pH4.0

2.2 样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 可以用结合/洗涤缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用结合/洗涤缓冲液透析。

样品在上样前建议离心或用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 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 层析介质装填

Streptavidin 高速层析介质 (6FF) 被广泛应用于工业纯化, 因此涉及到各种中压色谱层析柱的装填。

层析柱的装填 (使用储液器装填)

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. 将层析介质悬浮起来, 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, 开起泵, 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, 将分配器至于层析柱中。
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。

2.4 样品纯化

- 将层析介质装入合适的层析柱, 层析用 5 倍柱体积的结合 Buffer 进行平衡, 使层析介质处于与目的蛋白相同的缓冲体系下, 起到保护蛋白的作用。
- 将样品加到平衡好的层析介质中 (保证目的蛋白与层析介质充分接触, 提高目的蛋白的回收率), 收集流出液。
- 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗, 去除非特异性吸附的杂蛋白, 收集洗杂液。
- 使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer, 收集洗脱液, 即目的蛋白组分。
- 依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡层析介质, 最后再用 5

倍柱体积的 20% 的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20% 的乙醇中，置于 4°C 保存，防止层析介质被细菌污染。

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. 层析介质清洗

Streptavidin 高速层析介质（6FF）可以重复使用而无需再生，但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，这时可按照下面方法对层析介质进行清洗。

➤ **去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法**

用 2 倍柱体积的 0.1M NaOH 或 6M 盐酸胍或 8M 尿素溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

➤ **去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质**

用 3-4 倍柱体积的 70% 乙醇或 2 倍柱体积的 1% Triton X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Streptavidin 高速层析介质（6FF）	BDTL0014-5	5ml
Streptavidin 高速层析介质（6FF）预装柱	BDTL0014-11	1×1ml
	BDTL0014-51	5×1ml
	BDTL0014-15	1×5ml
	BDTL0014-55	5×5ml
	BDTL0014-3115	3×1ml+1×5ml