

## Streptactin 层析介质 (4FF)

### Streptactin Beads (4FF)

货号	规格
BDTL0026-5	5ml
BDTL0026-25	25ml

#### 1. 产品介绍

本产品是在 4% 琼脂糖微球上偶联了 Streptactin 蛋白。可用于从任何表达系统包括杆状病毒、哺乳动物细胞、酵母和细菌中纯化含 Strep II 标签 (Strep-tag II) 的重组蛋白。Strep II 标签是一个由 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, 因此无需从重组蛋白上去除。

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。本产品具有较高的耐受性, 可以多次使用。(表 2)

表 1. Streptactin 层析介质 (4FF) 性能

性能	指标
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	Streptactin
载量	6mg Strep-tag II 蛋白/ml 介质
粒径 (μm)	45-165
最大流速	300cm/h
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8 °C

表 2. Streptactin 层析介质 (4FF) 耐受性

试剂	浓度
Reduction Agents	
DTT	50 mM

β-mercaptoethanol	50 mM
Non-Ionic Detergents	
C <sub>8</sub> E <sub>4</sub> Octyltetraoxyethylene	最高 0.88 %
C <sub>10</sub> E <sub>5</sub> ; Decylpentaoxyethylene	0.12 %
C <sub>10</sub> E <sub>6</sub>	0.03 %
C <sub>12</sub> E <sub>8</sub>	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 %
其它	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 M
CaCl <sub>2</sub>	最高 1 M
Ethanol	10%
EDTA	50 mM
Guanidine	最高 1 M
Glycerol	最高 25 %
Imidazole	最高 250 mM
MgCl <sub>2</sub>	1 M
NaCl	5 M
Urea	最高 1 M

## 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。

➤ **结合/ 洗杂 Buffer:** 100mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 1mM EDTA, pH 8.0  
(或 PBS, pH7.4)

➤ **洗脱 Buffer:** 结合 Buffer 中加入 2.5mM 脱硫生物素

➤ **再生 Buffer:** 0.5M NaOH 或 结合 Buffer 中加入 1mM HABA

## 2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 $\mu$ m 或 0.45 $\mu$ 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

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. 将树脂悬浮起来, 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

1. 将 Streptactin 层析介质 (4FF) 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。
2. 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。

3. 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。
4. 使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer, 收集洗脱 Buffer, 即目的蛋白组分。
5. 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。然后保存在等体积的保护液中, 置于 2-8 °C 保存, 防止层析介质被细菌污染。

## 2.5 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. 层析介质清洗和再生

- 再生: 依次用 3 倍柱体积(CV)的去离子水、0.5M NaOH 和去离子水清洗。
- 平衡: 下次使用前用 5 倍柱体积的平衡 Buffer 平衡。

注: 可选择用 15 倍柱体积的含 1mM HABA 的结合 Buffer 再生, 然后用 30 倍柱体积的结合 Buffer 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 随后被结合 Buffer 除去, 柱子可被重新使用。

- 保存: 层析介质再生清洗后保存在等体积的保护液(含 20% 乙醇的 1×PBS)中, 置于 2-8 °C 保存, 防止层析介质被细菌污染。