



HiSelect Streptavidin 6FF

目录

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

1. 产品介绍

Streptavidin Beads 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 pH 9.5-11.0 结合，pH 4.0 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。

HiSelect Streptavidin 6FF 是一种中压预装柱，填充 4.7 ml 的 **Streptavidin Beads 6FF** 介质。柱管由生物相容性聚丙烯制成，不与生物分子相互作用。柱管两头都有堵头，防止保护液的泄露。柱体标签上的箭头表示推荐的流向。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中压色谱系统，如 ÄKTA 等，方便客户操作。

表 1. HiSelect Streptavidin 6FF 产品性能

性能	指标
规格	4.7 ml
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
配体	链霉亲和素
载量	>200 nmol Biotin/ml 介质
粒径	45-165 μm
最大流速	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	4-9
柱尺寸 (内径×高度)	0.77×10 cm
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8 °C

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。

生物素或生物素化物质的纯化

平衡/洗杂液：20 mM NaH₂PO₄, 0.15 M NaCl, pH 7.4

洗脱液：8 M 盐酸胍, pH 1.5

亚氨基生物素标签物质的纯化

平衡/洗杂液：50 mM 碳酸铵, 0.5 M NaCl, pH 10.0

洗脱液：50 mM 碳酸铵, 0.5 M NaCl, pH 4.0

2.2 样品准备

上柱前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用平衡/洗杂液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用平衡/洗杂液透析。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

HiSelect Streptavidin 6FF 可以用各种常规的中压色谱系统，以 ÄKTA 仪器使用为例介绍 **HiSelect Streptavidin 6FF** 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。再打开下口，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。
- 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) 用洗脱液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5 倍柱体积洗脱液就足够了。线性洗脱可以 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。
- 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 倍柱体积的含 20%乙醇的 1×PBS 平衡，然后将预装柱置于 2-8℃ 保存，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. 填料清洗

Streptavidin Beads 6FF 纯化产品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填料进行清洗。

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 0.1 M NaOH 或 6 M 盐酸胍或 8 M 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
HiSelect Streptavidin 6FF	SA021C47	1×4.7 ml
HiPur Streptavidin 6FF	SA021C20	1×20 ml