



# HiSelect Streptactin 4FF

## 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

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

**HiSelect Streptactin 4FF** 是一种中压预装柱, 填充4.7 ml 的 **Streptactin Beads 4FF** 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 Streptactin 4FF 产品性能

项目	性能
规格	4.7 ml
基质	高度交联的4%琼脂糖微球
配体	Streptactin
载量	3-5 mg Strep-tag II 蛋白/ml 介质
粒径范围	45-165 μm
最大流速	300 cm/h
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℃

表 2. HiSelect Streptactin 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	Max.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 %



表 2. Streptactin Beads 4FF 耐受性 (续)

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 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 M
CaCl <sub>2</sub>	Max.1 M
Ethanol	10%
EDTA	50 mM
Guanidine	Max.1 M
Glycerol	Max.25 %
Imidazole	Max.250 mM
MgCl <sub>2</sub>	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, pH 8.0

或 PBS: 20 mM sodium phosphate, 280 mM NaCl, 6 mM potassium chloride, pH 7.4

**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:** 1 M NaOH 或平衡液中加入 1 mM HABA

### 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

**HiSelect Streptactin 4FF** 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 **HiSelect Streptactin 4FF** 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 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 1 mM 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 1 M 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。

#### 4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
HiSelect Streptactin 4FF	SA053C47	1×4.7 ml
HiPur Streptactin 4FF	SA053C20	1×20 ml