



# Streptavidin Beads 6FF 重力柱

## 目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 在位清洗.....	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 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 Beads 6FF 采用高度交联的 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。

**Streptavidin Beads 6FF 重力柱**以 Streptavidin Beads 6FF 为装填材料，提供 1 ml 和 5 ml 两种规格产品，方便客户使用，操作简单，纯化效率高。

表 1. Streptavidin Beads 6FF 产品性能

项目	性能
基质	高度交联的 6%琼脂糖微球
粒径	45-165 $\mu\text{m}$
配体	重组链霉亲和素
载量	>200 nmol Biotin/ml 基质
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
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

#### 生物素或生物素化物质的纯化

平衡/洗杂液：20 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.15 M NaCl, pH7.4

洗脱液：8 M Gu-HCl, pH1.5

#### 亚氨基生物素标签物质的纯化

平衡/洗杂液：50 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ , 0.5M NaCl, pH10.0

洗脱液：50 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ , 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，可以用平衡/洗杂液对样品稀释，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  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  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 样品纯化

**Streptavidin Beads 6FF 重力柱**使用请参考以下说明，各溶液用量均按照柱体积计算（例如：2 个柱体积，1 ml 规格对应为 2 ml 溶液，5 ml 规格对应为 10 ml 溶液）。整个纯化流程大约需要 30 min（主要取决于样品体积和溶液的粘稠性），操作快捷。使用流程请参考图 1。

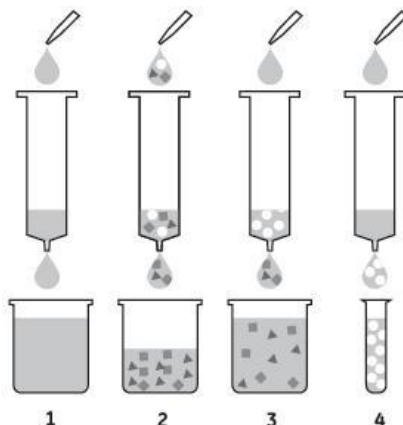


图 1. 使用 Streptavidin Beads 6FF 重力柱纯化蛋白流程示意图

Step 1: 柱子平衡; Step 2: 上样; Step 3: 洗杂; Step 4: 洗脱

- 1) 将 Streptavidin Beads 6FF 重力柱固定在铁架台上，依次去掉下端塞和上端塞，流干重力柱的保护液。
- 2) 向柱管中加入 5 个柱体积的平衡液，进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下，起到保护蛋白的作用。
- 3) 将样品加到平衡好的重力柱中，样品保留时间至少 2 min，保证目的蛋白与介质充分接触，提高目的蛋白的回收率。收集流出液，用于 SDS-PAGE 分析蛋白质的结合情况，在出现问题时，更方便寻找解决问题的方案。
- 4) 用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 5) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液进行目的蛋白的洗脱，分段收集，每一个柱体积收集一管，分别检测，既可以保证所有结合的目的蛋白被洗脱，又可以得到高纯度和高浓度的蛋白。
- 6) 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。将重力柱保存在等体积的 20%乙醇中，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. 在位清洗

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树脂进行清洗。

**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
Streptavidin Beads 6FF 重力柱	SA021GC01	1 ml
	SA021GC05	5 ml