

Biolinkedin® Strep-Tactin XT (Strep-Tag II) 凝胶

包装清单

名称	货号	包装
Strep-Tactin XT (Strep-Tag II)凝胶	L-2302	2mL
	L-2302A	10mL
	L-2302B	25mL

产品概述

Biolinkedin® Strep-Tactin XT (Strep-Tag II) 凝胶，是由高度交联的 4%琼脂糖凝胶为基质共价结合了大量的最新的 Strep-Tactin 配体—Streptactin XT 蛋白。Strep-tag II 是一种在蛋白纯化系统中应用广泛的亲和标签。它包括两种类型 Strep-tag II 和 Twin Strep-tag II。Strep-tag II 是一个短肽标签，由 8 个氨基酸 (WSH PQFEK) 组成，可以作为 N 端或 C 端标签与蛋白质融合，对重组蛋白的影响很小。进一步改进的 Twin Strep-tag II 是一个顺序排列的两个 Strep-tag II 序列(通过内部氨基酸连接)，该标签能够像 Strep-tag II 一样进行温和、快速的纯化。

Strep-Tactin XT (Strep-Tag II) 凝胶主要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 和 Twin Strep-tag II 蛋白。

产品特性

基质	高度交联的 4%琼脂糖凝胶 (4FF)
配体	重组 Streptactin XT 蛋白
浓度	凝胶体积占悬浮液体积的 50%
粒径	45~135µm
耐压流速	80~150cm/h (0.3MPa, 3bar)
结合能力	10mg Twin Strep-tag II 蛋白/mL 凝胶
适用范围	Strep-tag II 或 Twin-Strep-tag 蛋白的纯化
保质期	在 2~8°C 稳定保存两年

Strep-Tactin XT (Strep-Tag II) 凝胶耐受性

试剂	浓度
盐酸胍	6 M
尿素	8 M
NaCl	5 M
DTT	50 mM
β-巯基乙醇	50 mM
EDTA	50 mM
吐温-20	2%
咪唑	0.25 M

操作流程

(一) 生物素化分子纯化操作流程

1. 使用前准备

1.1 缓冲液：

缓冲液	配方
平衡/洗杂液	0.15M NaCl, 20mM Na ₂ HPO ₄ , pH 7.2
洗脱液	平衡/洗杂液加入 1~5mM D-生物素
再生液	10mM NaOH

1.2 漩涡振荡器、旋转混合仪、移液器、枪头及离心管

1. 样品准备

样品在上样前建议离心并用 0.22µm 或 0.45µm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率。

2. 凝胶装填

1) 取合适规格的亲和层析柱，装入垫片，加入适量去离子水润洗柱管和垫片，关闭下出口。

2) 将 **Strep-Tactin XT (Strep-Tag II) 凝胶** 混合均匀，用移液器吸取适量浆液加入至层析柱中 (凝胶实际体积占悬液的一半)，打开下出口流出保护液。

3) 加入适量去离子水冲洗凝胶，待柱中液体流出后，关闭下出口。

4) 装填好的层析柱加入 **平衡/洗杂液** 进行平衡，暂不使用时则加入保护液，2~8°C 保存。

3. 样品纯化

3.1 孵育法纯化

1) 根据纯化的样品量，取适量 **Strep-Tactin XT (Strep-Tag II) 凝胶** 加入离心管中，1000rpm 离心 1min，去除上清；

2) 向离心管中加入 5 倍凝胶体积的 **平衡/洗杂液** 清洗凝胶，1000rpm 离心 1min，去除上清，重复 2 次以上。

3) 加入样品，置于旋转混匀仪，2~8°C 孵育 2~4h 或者过夜孵育。

4) 孵育结束后，1000rpm 离心 1min，吸取上清至新离心管，上清保留作为流穿，用于电泳鉴定。

5) 用 5 倍凝胶体积的**平衡/洗杂液**清洗凝胶,1000rpm 离心 1min,去除上清(注意不要吸到凝胶),重复 3~5 次,中间建议更换新离心管。

6) 加入 3~5 倍凝胶体积的**洗脱液**进行洗脱,室温孵育 5~15min,1000rpm 离心 1min 收集洗脱液,可重复 2~3 次。

3.2 层析柱法纯化

溶液用量按柱体积计算(例如 5 倍柱体积,1mL 规格对应为 5mL 溶液,10mL 规格对应为 50mL 溶液)。

1) 将装填好的 **Strep-Tactin XT (Strep-Tag II)** 凝胶层析柱用 5 倍柱体积**平衡/洗杂液**进行平衡,使凝胶处于与目的蛋白相同的缓冲液体系下,重复 2~3 次。

2) 将样品加到平衡好的层析柱中,置于旋转混匀仪孵育 30~60min 后,收集流出液,可以反复上样增加结合效率。

3) 用 10~15 倍柱体积的**平衡/洗杂液**进行洗杂,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**洗脱液**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。

3.3 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品(包括流穿组分、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。

4. 凝胶再生与清洗

再生: **Strep-Tactin XT (Strep-Tag II)** 凝胶每次使用后都应进行一次再生,去除结合在凝胶上的 D-生物素,以确保结果的一致性,具体操作是用 5 倍柱体积的去离子水清洗,用 10 倍柱体积的 10mM NaOH 再生,然后用 5 倍柱体积的去离子水清洗。

保存: 凝胶再生清洗后保存在等体积的保护液中,置于 2~8°C 保存,防止凝胶被细菌污染。

注意事项

- 行实验操作之前,请务必认真阅读本操作说明书。
- 实验中 Strep-Tactin XT (Strep-Tag II) 凝胶与 Strep-tag II 和 Twin Strep-tag II 蛋白结合的能力是有区别的,结合还会受到 Buffer 的影响,因此**可自行优化操作细节或者筛选及配制缓冲液进行实验**。
- 凝胶使用前应充分振荡均匀。凝胶应保存在储存溶液中,防止干燥。
- 本产品仅供科学研究使用。

相关产品

货号	产品名称
L-1012	链霉亲和素磁珠
L-2301	链霉亲和素凝胶
L-2302	Strep-Tactin XT (Strep-Tag II) 凝胶