

描述: Strep-Tactin XT (Strep-Tactin 的升级产品) 琼脂糖凝胶 FF 是一种将 Strep-Tactin XT 共价交联在琼脂糖凝胶微球上, 形成的生物亲和层析分离介质。该纯化介质主要用于纯化 Strep tag II 或 Twin strep tag 标签蛋白。Strep tag II 标签为 8 个氨基酸的小标签 (WSHPQFEK), 由于标签小, 仅为 1kDa 左右, 一般不影响融合后蛋白质的结构和功能, 常用于融合表达蛋白质的检测和纯化。由于 Strep-Tactin XT 对 Strep tag II 标签具有高度特异性, 一步纯化就能获得高纯度的蛋白质样品。Strep tag II 标签蛋白与凝胶结合后可使用脱硫生物素竞争方式进行洗脱, 该洗脱方式比较温和, 对蛋白影响极小。

由于 Strep-Tactin 对 Strep tag II 标签具有很强的吸附能力, 在生物素的洗脱过程中不易完全洗脱, 造成洗脱效率较低。可以通过在脱硫生物素洗脱液中添加 25mM NaOH 来提高蛋白回收效率, 而添加 NaOH 后会造成 Strep-Tactin 从填料上脱落, 进而污染纯化蛋白。本产品为升级的 Strep-Tactin XT, 其可耐受高浓度的 NaOH 洗脱 (0.5M), 除此外 Strep-Tactin XT 可耐受 1%SDS、6M 尿素, 因此使用该填料可以在变性条件下纯化标签蛋白。

比较

| Strep-Tactin Resin 缺点 | Strep-Tactin XT Resin 优点 |
|---|---------------------------------|
| (1)常规 3mM D-biotin 洗脱, 洗脱效率较低。 | (1) 可采用多种洗脱模式; 高效的洗脱率, 灵活的洗脱条件。 |
| (2)填料再生成本高, 需要 HABA 再生, 再生时间长, 再生后填料结合能力下降较多, 一般难以再生 3 次以上。 | (2)方便的填料再生方式, 通常可重复使用 10 次以上。 |
| (3)不能在变性条件下纯化蛋白。 | (3)可以在变性条件下纯化蛋白。 |
| (4)洗脱蛋白中会有残留脱落的 Strep-Tactin 蛋白 | (4)洗脱产物中不含有脱落蛋白, 获得最高纯度的蛋白制品。 |

Strep-Tactin XT Resin 技术指标

| | | | |
|-------|-----------------|---------|--------------------------|
| 基质 | 4%琼脂糖凝胶微球 | PH 耐受性 | 2~13 |
| 配基 | Strep-Tactin XT | 耐盐性 | <2M NaCl |
| 配基密度 | >5 mg/ml | SDS 耐受性 | <2% |
| 粒径 | 45~165 μm | 还原剂耐受性 | <10mM DTT, <0.1% beta-ME |
| 结合蛋白量 | >5 mg/ml | 变性剂耐受性 | <6M 尿素 |

储存: 4~8℃可保存 2 年。

保存液: 10mM Tris-HCl, pH7.5; 100mM NaCl; 20%乙醇

实验用溶液:

- (1) 结合缓冲液: 根据自身蛋白性质来定, 一般推荐 50mM Tris-HCl(pH8.0), 150mM NaCl (或采用 PBS)
- (2) 洗涤液与结合缓冲液相同, 一般洗涤 5~20 个柱体积。
- (3) 洗脱缓冲液: 在结合缓冲液中加入 2.5~3.5mM D-Biotin。或根据蛋白性质和用途灵活使用其它洗脱条件, 如 2.5mM D-Biotin+10mM NaOH; 25~50mM NaOH; 0.2% SDS;
- (4) 柱再生: 0.2M NaOH 洗涤 3~5 个柱体积; 1M NaCl 洗涤 3~5 个柱体积; PBS 平衡 3~5 个柱体积。