

Streptavidin Agarose Resin 6FF 链霉亲和素琼脂糖纯化树脂

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Streptavidin Agarose Resin 6FF 链霉亲和素琼脂糖纯化树脂	20512ES08	5 mL
Streptavidin Agarose Resin 6FF 链霉亲和素琼脂糖纯化树脂	20512ES25	5×5 mL
Streptavidin Agarose Resin 6FF 链霉亲和素琼脂糖纯化树脂	20512ES60	100 mL

产品描述

Streptavidin Agarose Resin 6FF 是一种生物素或生物素化的蛋白、抗体等物质的纯化树脂，其作用原理是基于链霉亲和素与生物素之间的相互作用，将链霉亲和素高度交联于 6% 琼脂糖上，独特的制备工艺使其具有更高的物理化学特性，可以耐受更高的压力，在相对较高的流速下，实现对目的蛋白的纯化，更适于工业大规模蛋白的纯化。

由于链霉亲和素与生物素之间的亲和力很强，纯化时需要在变性条件下洗脱；而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。

产品性质

基质 (Matrix)	高度交联的 6% 琼脂糖微球
配体 (Ligand)	链霉亲和素
粒径 (Bead size)	45-165 μm
载量 (Capacity)	>200 nmol Biotin/mL 介质
最大压力 (Pressure _{Max})	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围 (pH range)	2-10
储存缓冲液 (Buffer)	20% 乙醇

运输和保存方法

冰袋运输。4°C 保存，有效期 2 年。

需准备试剂

所用水和 Buffer 在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤除菌。

生物素或生物素化物质的纯化

结合/洗杂缓冲液：150 mM NaCl, 20 mM NaH₂PO₄, pH 7.4

洗脱缓冲液：8 M 盐酸胍, pH 1.5

亚氨基生物素标签物质的纯化

结合/洗杂缓冲液：50 mM 碳酸铵, 0.5 M NaCl, pH 10.0

洗脱缓冲液：50 mM 碳酸铵, 0.5 M NaCl, pH 4.0

使用方法

【注】样品在上样前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质以防阻塞柱子。另外，确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用结合/洗涤缓冲液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用结合/洗涤缓冲液透析。

1 Streptavidin Agarose Resin 6FF 的装填（适用于各种中压色谱层析柱的装填）

- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头, 确保柱底筛板上无气泡, 关闭柱底出口, 并在柱底部留出 1-2 cm 的去离子水。
- 2) 将树脂悬浮起来, 小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 3) 如果使用储液器, 应立即在层析柱和储液器中加满水, 将进样分配器放置于浆液表面, 连接至泵上, 避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口, 开起泵, 使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱, 然后缓慢增加至最终流速, 这样可避免液压对所形成柱床的冲击, 避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速, 可以用所使用泵的最大流速, 这样也可以得到一个很好的装填效果。
【注】在随后的色谱程序中, 不要超过最大装柱流速的 75%, 当柱床高度稳定后, 在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。
- 5) 关闭泵, 关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器, 去除储液器, 将分配器至于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器, 锁紧分配器接头。
- 8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中, 开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

2 样品纯化 (以 ÄKTA 为例)

- 1) **平衡:** 用 5 倍柱体积的结合 Buffer 平衡层析柱, 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。
- 2) **上样:** 将样品加到平衡好的层析柱中, 保证目的蛋白与树脂充分接触, 提高目的蛋白的回收率, 收集流出液, 待检测。
- 3) **洗杂:** 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗, 去除非特异性吸附的杂蛋白, 收集洗杂液, 待检测。
- 4) **洗脱:** 使用 5-10 倍柱体积的洗脱缓冲液, 收集洗脱液, 即目的蛋白溶液。
- 5) **清洗及保存:** 依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 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 20% 的乙醇平衡, 然后保存在等体积的 20% 的乙醇中, 置于 4 度保存, 防止填料被细菌污染。

2 SDS-PAGE 检测

将纯化过程中得到的样品 (包括原始样品、流出组分、洗杂及洗脱组分等) 利用 SDS-PAGE 进行检测, 判定其纯化效果。

【注】由于盐酸胍的带电性强, 会中和 SDS 的电荷, 影响后面蛋白在上样缓冲液里的带电性能, 电泳时产生沉淀, 导致无法电泳。因此后续可以对样本进行透析或者盐析 (透析可利用透析袋, PBS 作为透析液, 透析两次, 每次 1 小时, 透析液的体积可控制在样本的 100 倍)。

3 填料清洗

随着非特异结合蛋白的增多和蛋白的聚集, 会造成流速和结合载量性能下降, 此时需对填料进行清洗。

1) 去除一些沉淀或变形物质

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。

2) 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 1% Triton X-100 清洗, 然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

注意事项

- 1) 请勿冷冻保存本产品。
- 2) 所有操作过程中, 样本需要在 4°C 或冰上操作。
- 3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

20512ES08	Streptavidin Agarose Resin 6FF 链霉亲和素琼脂糖纯化树脂	5 mL
20513ES03	BiotSep Streptavidin 6FF Chromatography Column, 1ML 生物素分子纯化预装柱, 1ML	1 mL
20513ES08	BiotSep Streptavidin 6FF Chromatography Column, 1ML 生物素分子纯化预装柱, 1ML	5×1 mL
20514ES08	BiotSep Streptavidin 6FF Chromatography Column, 5ML 生物素分子纯化预装柱, 5ML	5 mL
20514ES25	BiotSep Streptavidin 6FF Chromatography Column, 5ML 生物素分子纯化预装柱, 5ML	5×5 mL