

# BiotSep Streptavidin 6FF Chromatography Column, 5ML

## 生物素分子纯化预装柱, 5ML

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
BiotSep Streptavidin 6FF Chromatography Column, 5ML 生物素分子纯化预装柱, 5ML	20514ES08	5 mL
BiotSep Streptavidin 6FF Chromatography Column, 5ML 生物素分子纯化预装柱, 5ML	20514ES25	5×5 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。

BiotSep Streptavidin 6FF Chromatography Column, 5ML 是装填了 Streptavidin Agarose Resin 6FF 的一种中压预装柱, 规格 5 mL, 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。

### 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 $\mu\text{m}$
载量 (Capacity)	>200 nmol Biotin/mL 介质
最大压力 (Pressure <sub>Max</sub> )	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  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  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 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 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  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  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 样品纯化（以 ÄKTA 为例）

- 1) **准备:** 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。再折断下口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。
- 2) **清洗:** 3-5 倍柱体积去离子水冲洗层析柱中储存液。
- 3) **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。
- 4) **上样:** 将样品加到平衡好的层析柱中，推荐流速 1-5 mL/min，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。

【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) **洗杂:** 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗，直到紫外吸收达到一个稳定的基线，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液，待检测。
- 6) **洗脱:** 用洗脱 Buffer 采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5 倍柱体积洗脱液足够将目的蛋白洗脱下来。也可以用一个小梯度，例如 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。
- 7) **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