

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

Strep-Tactin XT (Strep-tag II) 琼脂糖凝胶

Strep-Tactin XT (Strep-tag II) Agarose

产品描述

TargetMol Strep-Tactin XT 琼脂糖凝胶采用特殊的蛋白偶联工艺，将 Strep-Tactin XT 蛋白共价偶联到高度交联的 4% 琼脂糖凝胶表面，是专为分离纯化 Strep-tag II 蛋白设计的一种新型功能化材料，可以高效快速地获得高纯度纯化蛋白。Strep-Tactin XT 琼脂糖凝胶采用 Strep-Tactin/Strep-Tag 新型蛋白纯化系统，模拟链霉亲和素-生物素系统，将高特异性与温和的洗脱条件相结合。与其他 tag 相比，Strep-tag II 由 8 个氨基酸的小标签 (Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys) 组成，标签的小尺寸减少了对靶蛋白结构或功能的潜在干扰，无需切除，不影响融合后蛋白质的结构和功能。Strep-Tactin 对 Strep-tag II 的亲和能力较链霉亲和素提高了近 100 倍，且分离纯化条件温和，在生理条件下即可实现蛋白的分离纯化，可以保存蛋白质的生物活性，获得纯度超 99% 的目标蛋白。

产品特点

- 耐受性强：耐受 6 M 盐酸胍, 8 M 尿素, 5 M NaCl, 50 mM DTT, 50 mM β -ME, 50 mM EDTA, 2% 吐温-20, 0.25 M 咪唑。
- 高亲和力与高特异性：对 Strep-tag II 和 Twin Strep-tag II 具有更高亲和力，有效降低非特异性蛋白污染。
- 温和洗脱条件：可使用生物素进行竞争性洗脱，无需强变性或极端条件，有助于保持目标蛋白的天然构象与生物活性。

产品信息

Strep-Tactin XT (Strep-tag II) 琼脂糖凝胶	特性
基质	高度交联的 4% 琼脂糖凝胶 (4FF)
粒径	45~135 μ m
配体	重组 Streptactin XT 蛋白
磁珠浓度	50% (v/v)
结合能力	10mg Twin Strep-tag II 蛋白/mL 凝胶
耐压流速	80~150 cm/h (0.3MPa, 3bar)

产品应用

- 适用于从多种表达系统（包括杆状病毒、哺乳动物细胞、酵母及细菌）中高效纯化带有 Strep-tag II 或 Twin Strep-tag II 标签的重组蛋白。

操作说明

自备试剂

试剂	可选配方
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. 样品准备

样品上样前建议进行离心处理，并通过 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，以去除颗粒杂质，提高蛋白纯化效率。

2. 凝胶装填

- 1) 选择合适规格的亲和层析柱，安装底部垫片后，加入适量去离子水润洗柱管及垫片，并关闭下出口。
- 2) 充分混匀 Strep-Tactin XT (Strep-tag II) 琼脂糖凝胶，吸取适量浆液加入层析柱中，打开下出口使保护液自然流出。
- 3) 加入适量去离子水冲洗凝胶，待液体流尽后关闭下出口。
- 4) 使用平衡/洗杂液对装填好的层析柱进行平衡；如暂不使用，可加入保护液，置于 2–8°C 保存。

3. 样品纯化

3.1 孵育法纯化

- 1) 根据样品量取适量 Strep-Tactin XT (Strep-tag II) 琼脂糖凝胶于离心管中，1000 rpm 离心 1 min，弃去上清。
- 2) 加入 5 倍凝胶体积的平衡/洗杂液清洗凝胶，1000 rpm 离心 1 min，弃上清，重复至少 2 次。
- 3) 加入样品，在 2–8°C 条件下置于旋转混匀仪孵育 2–4 h 或孵育过夜。
- 4) 孵育结束后，1000 rpm 离心 1 min，将上清转移至新离心管中（作为流穿组分保留，用于后续分析）。
- 5) 加入 5 倍凝胶体积的平衡/洗杂液清洗凝胶，1000 rpm 离心 1 min，弃上清（避免吸取凝胶），重复 3–5 次，过程中建议更换离心管。
- 6) 加入 3–5 倍凝胶体积的洗脱液进行洗脱，室温孵育 5–15 min，1000 rpm 离心 1 min 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 (CV)，1 mL 规格对应 5 mL 溶液，10 mL 规格对应为 50 mL 溶液。

- 1) 使用 5 倍柱体积的平衡/洗杂液对层析柱进行平衡，使凝胶处于与目标蛋白一致的缓冲体系中，重复 2–3 次。
- 2) 将样品加入已平衡的层析柱中，置于旋转混匀仪孵育 30–60 min，收集流出液。可重复上样以提高结合效率。
- 3) 使用 10–15 倍柱体积的平衡/洗杂液进行洗杂，以去除非特异性结合蛋白，收集洗杂组分。
- 4) 使用 5–10 倍柱体积的洗脱液进行洗脱，按柱体积分段收集（每 1 倍柱体积收集一管），分别检测，以获得高纯度和高浓度的目标蛋白。

3.3 SDS-PAGE 检测

将原始样品及纯化过程中获得的各组分（流穿、洗杂及洗脱）进行 SDS-PAGE 分析，以评估纯化效果。

4. 凝胶再生与保存

- 1) **再生**：每次使用后建议对凝胶进行再生处理，以去除结合的 D-生物素并保证重复使用性能。操作步骤如下：
依次用 5 倍柱体积去离子水清洗 → 10 倍柱体积再生液处理 → 再用 5 倍柱体积去离子水清洗。
- 2) **保存**：再生后的凝胶应置于等体积保护液中，于 2–8°C 保存，以防止微生物污染。

保存条件

4°C，2 年。

注意事项

1. 凝胶应保存在储存溶液中，防止干燥。
2. 在从保存管中取出琼脂糖凝胶之前，应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
3. 操作者可根据实际需求，利用抗体结合反应步骤和抗原结合反应步骤中收集的上清液，检测抗体、抗原与凝胶的结合情况。
4. 在 IP 实验中，不同类型的抗体和抗原结合的亲和力会有所不同。如果使用本试剂盒提供的缓冲体系未能获得理想的实验结果，操作者可以自行筛选和配制缓冲液进行实验。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

