

Strep-Tag II 蛋白纯化磁珠

BeaverBeads™ Magrose Strep-Tactin

产品简介

Strep-Tag 系统是模拟链霉素亲和素-生物素系统的新型蛋白纯化系统，Strep-Tactin 对 Strep-Tag II 的亲和能力与链霉素亲和素相比，至少强 10 倍以上，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；此外，与其他 tag 相比，Strep-Tag II 为 8 个氨基酸的小标签（WSHPQFEK），由于标签小，仅为 1 kDa 左右，不影响融合后蛋白质的结构和功能。这些温和的纯化参数能保存蛋白质的生物活性，并仅经一步提取即可产出超过 99% 的纯度。BeaverBeads™ Magrose Strep-Tactin 磁珠采用特殊的蛋白偶联工艺，将 Strep-Tactin 蛋白共价偶联到超顺磁性磁珠表面，制备了一种专为高效、快速分离纯化 Strep-tag II 蛋白的一种新型功能化材料，实现并搭建了提取速度、提取量及纯度兼得的蛋白纯化平台。

产品信息

产品名称	BeaverBeads™ Magrose Strep-Tactin
磁珠粒径	30~150 μm
配基含量	~6 mg Strep-Tactin /mL Gel
融合蛋白结合量 ¹	~7 mg Strep-tag II 蛋白 /mL Gel
悬液浓度	10% (v/v) 磁珠悬液
保存液	1×PBS (0.1% Tween-20+0.05% NaN ₃)
保存温度	2~30 °C (长期保存，建议置于 2~8 °C)
保质期	2 年
Binding/Washing Buffer	10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0
Elution Buffer	2.5 mM desthiobiotin in Binding Buffer
Regeneration Buffer	0.5 M NaOH or 1 mM HABA in Binding Buffer

注 1: 磁珠蛋白结合量与目标蛋白特性相关，此处仅做参考值。

适用范围

可用于从任何表达系统，包括杆状病毒、哺乳动物细胞、酵母和细菌中含有 Strep-Tag II 标签蛋白的分离纯化。

操作流程

目标蛋白与磁珠的结合性能将直接影响目标蛋白的纯化效率，各种缓冲液配制也将一定程度上影响目标蛋白的回收率和纯度。以下提供一个较为广泛应用的 Strep-Tag II 蛋白的纯化流程，用户可参考该操作流程，或者根据自己蛋白的特性自行设计和优化蛋白纯化流程。

1. 缓冲溶液配制

Binding/Washing Buffer : 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0

Elution Buffer: 2.5 mM desthiobiotin in Binding Buffer.

2. 样品处理

本《用户手册》提供以下三种样品的处理方法：

- (1) 大肠杆菌、酵母等细胞内表达蛋白：表达细胞用适量 Binding Buffer 稀释，加入蛋白酶抑制剂（如终浓度为 1 mM 的 PMSF）；冰浴超声裂解细胞，即为粗蛋白样品。如果样品过于粘稠，可根据需要在粗样品中加入适量核酸酶，在冰上放置 30 min，以降解核酸。另外，如果目标蛋白含量较低，建议将粗蛋白样品进行离心操作。
- (2) 胞外表达蛋白：取胞外表达上清，用等量 Binding Buffer 稀释平衡，即为粗蛋白样品。
- (3) 动物细胞胞内表达蛋白：取适量动物细胞，用适量 PBS 洗涤 1 次，弃上清；用适量含 1% (v/v) Triton X-100 或 1% (v/v) NP-40 的 Binding Buffer 重悬；加入蛋白酶抑制剂（如终浓度为 1 mM 的 PMSF）；置于冰上 10 min，即为粗蛋白样品。

3. 磁珠预处理

一般情况下，磁珠的使用量是由用户根据目标蛋白产量和磁珠载量信息计算获得。例如：采用大肠杆菌表达某目标蛋白，250 mL 发酵液收获 1 g 湿重的菌体，通过预实验估算其目标蛋白产量为~7 mg，用户需要取 10 mL 10% 的磁珠悬液用于目标蛋白的纯化。以下即以此为例进行详细说明：

- (1) 将海狸磁珠产品置于漩涡混匀器上充分混匀，用移液器取 10 mL 磁珠悬液于离心管中；
- (2) 将离心管置于磁性分离器上，待溶液变澄清后，移去上清液；
- (3) 加入 5~10 mL Binding Buffer/Washing Buffer 到上述装有磁珠的离心管中，盖紧盖子，漩涡振荡 15 s，使磁珠重新悬浮。将离心管置于磁性分离器上，磁性分离*，移去上清液，重复洗涤 2 次。

(*注：在磁性分离过程中，为了减少磁珠在使用过程中的损耗，待溶液变澄清后，盖紧离心管盖子，保持离心管仍在磁性分离器上，手持磁性分离器与离心管上下翻转数次，使澄清的溶液润洗离心管盖上残留的磁珠，静置片刻，使溶液重新变澄清；以下同。)

4. 目标蛋白与磁珠结合

- (1) 用 10 mL Binding Buffer 重悬 1 g 湿重的菌体，进行破碎和裂解后，即为粗蛋白样品；
- (2) 将粗蛋白样品转移到装有已预处理磁珠的离心管中，盖紧离心管盖；
- (3) 将离心管置于漩涡混匀器振荡 15 s，然后将其置于垂直混合仪上，室温垂直混匀 30 min（如果需要，可在 2~8 °C 的低温环境下旋转混合约 1 h，防止目标蛋白降解）；
- (4) 将离心管置于磁性分离器上进行磁性分离，移出上清液到新的离心管中以备用后续检测。从磁性分离器上取下离心管进行下一步洗涤步骤。

5. 磁珠洗涤

- (1) 将步骤 4 的磁珠中加入 5~10 mL Washing Buffer，漩涡混合 2 min，磁性分离，移出清洗液到新的离心管中，以备取样检测；
- (2) 继续将上述磁珠中加入 5~10 mL Washing Buffer，漩涡混合 2 min，使磁珠重新悬浮，将磁珠悬液转移至新的离心管，避免原离心管壁上非特异性吸附蛋白污染目标蛋白；磁性分离，移出上清液到收集管，以备取样检测；

6. 目标蛋白洗脱

- (1) 加入 2~5 mL Elution Buffer (用户可根据需要改变洗脱体积调整目标蛋白浓度) 于离心管中, 盖紧离心管盖, 然后将离心管置于垂直混合仪上, 室温垂直混合洗脱 10 min; 磁性分离, 收集洗脱液到新的离心管中, 即为纯化的目标蛋白样品;
- (2) 如果需要, 可以重复上述步骤 1 次, 收集样品到新的离心管中, 以检测目标蛋白是否洗脱完全。

7. 磁珠再生和保存

- (1) NaOH 再生: 洗脱目的蛋白后的磁珠按照以下顺序进行洗涤: 5~10 mL 纯化水洗涤 3 次、5~10 mL 0.5M NaOH 洗涤 3 次、5~10 mL 纯化水洗涤至中性, 最后加入 10 mL 保存液, 将磁珠放置 2~8℃ 环境保存。
- (2) HABA 再生: 用脱硫生物素洗脱目标蛋白的磁珠还可以用 HABA 缓冲液再生, 加入 5~10 mL 1mM HABA 洗涤磁珠 5 次, 接着用 Binding Buffer 洗涤磁珠至磁珠本身颜色, 每次洗涤 5 min, 最后加入 10 mL 保存液, 将磁珠放置 2~8℃ 环境保存。

蛋白纯化流程的优化

以上操作流程适用于大部分 Strep-Tag II 标签蛋白的纯化, 根据目标蛋白与 Strep-Tactin 蛋白纯化磁珠的结合性能不同, 用户可以从以下几个方面对纯化流程进行优化, 以提高目标蛋白的回收率和纯度。

1. 提高目标蛋白回收率的参考方法:

- (1) 延长蛋白溶液与磁珠孵育的时间;
- (2) 添加合适的蛋白酶抑制剂, 防止目标蛋白降解;
- (3) 增加磁珠用量;
- (4) 延长洗脱目标蛋白的时间或增加洗脱次数;

2. 提高目标蛋白纯度的参考方法:

- (1) 在纯化过程中添加合适的蛋白酶抑制剂, 防止目标蛋白降解;
- (2) 延长洗涤的时间, 增加洗涤次数;

注意事项

- (1) 首次使用本产品前, 请务必仔细阅读本用户手册;
- (2) 磁珠使用和保存过程中应避免冷冻、干燥和高速离心等操作;
- (3) 在使用本产品前, 请务必充分振荡使磁珠保持均匀的悬浮状态;
- (4) 请选用质量好的移液器吸头和离心管, 以免磁珠贴壁或混合过程发生渗漏引起磁珠的损耗;
- (5) 磁珠与溶液混合过程中, 如果溶液粘稠无法通过翻转离心管重悬磁珠, 可采用移液器反复吹吸或短时漩涡混合使磁珠充分重悬;
- (6) 用户可根据实际需要保留磁性分离移去的上清液, 进行取样检测, 以便分析纯化过程和优化蛋白纯化流程;
- (7) 本产品可以重复使用, 重复使用时, 建议纯化同种蛋白, 纯化不同种类的蛋白时, 建议使用新的磁珠, 以防交叉污染;
- (8) 本产品需与磁性分离器配套使用;
- (9) 本产品仅供研究使用。

产品列表

货号	产品名称	规格
70808-5	BeaverBeads™ Magrose Strep-Tactin	5 mL
70808-50	BeaverBeads™ Magrose Strep-Tactin	50 mL
70808-250	BeaverBeads™ Magrose Strep-Tactin	250 mL

有限使用商标许可

苏州海狸生物医学工程有限公司声明对其开发的或者与其他单位合作开发的所有内容和服务拥有或者与合作者共同拥有全部知识产权, 受有关商标权、专利权等知识产权法律的保护。本产品的购买者享有的权利仅限于对所购买数量的本产品进行内部研究使用, 并且该权利不可转让, 亦不可用于任何商业应用, 购买者无权对该产品或其任何一部分进行重新销售。如出于商业用途的使用 (包括但不限于代理销售), 则必须经过苏州海狸生物医学工程有限公司的书面许可, 并在使用时注明来源和知识产权、版权等系苏州海狸生物医学工程有限公司所有的标记。如需获得其它权限信息, 请联系 Beaver@beaverbio.com, 或者苏州海狸生物医学工程有限公司地址: 苏州工业园区星湖街 218 号生物纳米园 A6-101, 邮编 215123。

本产品由苏州海狸生物医学工程有限公司生产。

版权声明:

©2013 苏州海狸生物医学工程有限公司保留所有权利。本《用户手册》所呈现的任何内容, 无论商标、设计、文字、图像和任何其他信息, 未经特殊说明, 其著作权均属苏州海狸生物医学工程有限公司所有。对于违反国家有关法律、法规, 不尊重本声明, 不经同意, 擅自使用本《用户手册》内容并不注明出处的行为, 本公司保留采取法律措施, 追究其责任的权力。

需要支持, 请访问: www.beaverbio.com/support 或电子邮件: Service@beaverbio.com