



Strep-tag II 标签蛋白纯化填料（糖珠）

- 货 号: KTSM1349
- 规 格: 5 mL/25 mL/100 mL （不包含保存液）
- 应 用: Strep-tag II 融合蛋白纯化/免疫沉淀
- 产品储存

保存液: PBS, 0.02% NaN₃, 25% glycerol

储存条件: 4~8 °C （避免冻存）

保质期: 12个月

运输: 冰袋运输

- 产品属性

粒径: 45-165 μm （4%交联琼脂糖珠）

耐压: 0.3 MPa

配基: 大肠杆菌表达, 纯度>95%

结合能力: 每1 mL填料可结合6-7 mg 含Strep-tag II/ Twin-Strep-tag的融合蛋白

- 产品简介

Strep-tag II 在蛋白互作和亲和纯化领域应用广泛, 主要有两种类型的标签, Strep-tag II (W-S-H-P-Q-F-E-K) 和 Twin-Strep-tag (S-A-W-S-H-P-Q-F-E-K-G-G-S-G-G-S-G-G-S-A-W-S-H-P-Q-F-E-K)。康体生命改造后的 Strep-tag II 纯化填料与含 Strep-tag II 标签的融合蛋白亲和力在 nM 范围, 与含 Twin-Strep-tag 标签的重组蛋白亲和力在 pM 范围, 因此, 可以高选择性且高亲和力的纯化含 Strep-tag II/ Twin-Strep-tag 标签的重组蛋白。

Strep-tag II/ Twin-Strep-tag 标签的重组蛋白结合示意图如图 1 所示。

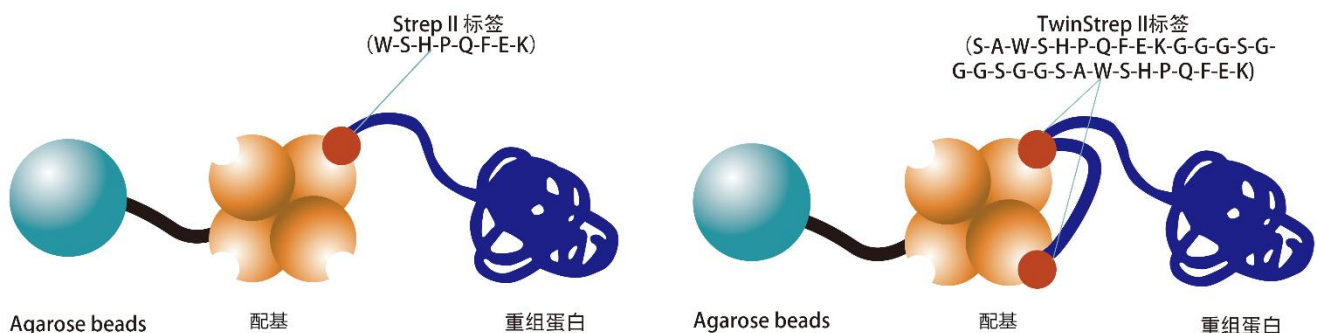


图1.填料与含Strep-tag II/Twin-Strep-tag标签的重组蛋白结合示意图



● 产品优势

本产品为 Strep-tag 标签系列蛋白纯化产品的升级迭代产品，主要具有以下优势：

1. 本产品可耐受不同的缓冲条件与添加剂，如高盐、去垢剂、还原剂、金属离子和螯合剂等，可在变性条件下进行蛋白纯化，样品中低于 50 μM 的 D-生物素不会影响目的蛋白与配基的结合。
2. 本产品与目的蛋白结合后可用含 50 mM D-biotin 的洗脱液（Elution buffer, E-XT）可逆洗脱，无需使用脱硫生物素，降低试剂使用成本。
3. 本产品可被再生处理，可用再生液（Regeneration buffer, R-XT）再生使用超过 30 次，且不影响结合性能。如需加大再生强度，可使用新配置的 10 mM 氢氧化钠溶液，建议再生使用 5 次以内。

● 推荐使用溶液

Buffer	Composition
Lysis buffer	50 mM Tris-HCl pH 7.5; 150 mM NaCl; 1% Triton-100; 1 mM EDTA
RIPA buffer	10 mM Tris-HCl pH 7.5; 150 mM NaCl; 0.5 mM EDTA; 0.1% SDS; 1% Triton X-100; 1% Deoxycholate
Dilution/Wash buffer	50 mM Tris-HCl pH 7.5; 150 mM NaCl; 1 mM EDTA
2 x Loading buffer	120 mM Tris-HCl pH 6.8; 20% glycerol; 4% SDS; 0.04% Bromophenol blue; 10% β -mercaptoethanol
Elution buffer (E-XT)	100 mM Tris-HCl pH 8.0; 150 mM NaCl; 1 mM EDTA; 50 mM biotin
Regeneration buffer (R-XT)	3 M MgCl_2

注意：对于其它细胞类型，如酵母、植物、昆虫、细菌，请使用等效的细胞溶解缓冲液。



● 操作步骤: 蛋白纯化 (重力柱方法)

➤ 平衡

将填料悬浮起来, 用移液器取适量填料混悬液加入重力柱中; 用 5 倍柱体积 (纯填料固体体积) 的缓冲液进行平衡, 使填料与待纯化样品在相同的缓冲液中。

➤ 结合蛋白

将待纯化样品加入平衡好的填料中, 注意不要冲散柱床并控制流速 (0.5-1 mL/min), 收集流穿样品, 可以多次上样增加结合效率。

➤ 洗涤

用5倍柱体积的Dilution/Wash buffer (或PBS buffer) 清洗填料1-3次, 去除非特异性结合的杂蛋白, 收集每次的洗杂液。

➤ 洗脱

用3-5倍柱体积的E-XT洗脱目的蛋白, 分管收集; 或第一次加入0.6倍柱体积的洗脱液, 收集并标记为E1, 第二次加入1.6倍柱体积的洗脱液, 收集并标记为E2, 第三次加入0.8倍柱体积的洗脱液, 收集并标记为E3。

注: 含脱硫生物素的洗脱液无法对本产品进行洗脱。

如遇蛋白洗脱困难的情况, 在排除蛋白在纯化过程中发生沉淀的情况下, 可适当增加洗脱液中D-biotin的浓度和洗脱次数。

我司生产的可配合本产品使用的E-XT洗脱液 (KTSM1353) 为5倍浓缩缓冲液, 需稀释5倍后使用, 即1 mL E-XT洗脱液 (5×) 需与4 mL去离子水混合后使用。

➤ 再生

1. 5 倍柱体积的 Dilution/Wash buffer 清洗填料;
2. 6 倍柱体积的 R-XT 再生液再生后立刻去除 R-XT, 并立即加入 8 倍柱体积的 Dilution/Wash buffer 清洗 1~2 次。

➤ 保存

填料再生清洗后保存在等体积的Dilution/Wash buffer液中, 2~8℃保存。

● 关联产品

产品名称	货号	规格
E-XT 洗脱液 (5×)	KTSM1353	10 mL/20 mL/100 mL



● 常见问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
洗脱液中没有重组蛋白	重组蛋白表达量太低或者目的蛋白未表达	优化表达条件或者更换载体
	蛋白序列出现移码等错误	测序确认, 调整阅读框
	蛋白被机械裂解的方法变性(比如超声)	过度超声产热会使标签蛋白变性, 建议采用如高压破碎、溶菌酶等温和的裂解方法
	受到了极端pH、高温、氧化或金属离子等不利因素影响, 重组蛋白降解	尽量在低温、非氧化条件下操作, 添加抗氧化剂(如 DTT、 β -巯基乙醇等)来防止蛋白质的氧化
	非特异的疏水相互作用导致蛋白和介质非特异的结合或聚集, 从而阻止标签蛋白的溶解和洗脱	向洗脱缓冲液中加入非离子去垢剂, 例如1% Triton X-100或2% n-octylglucoside等
重组蛋白结合效率低或不结合	样品或缓冲液中存在一些干扰因素, 如非离子去污剂	样品透析或用平衡液稀释
	纯化介质过载	增加介质体积
	纯化介质层析柱使用次数过多, 杂质干扰	纯化介质再生或更换新的纯化介质
SDS-PAGE或WB发现多条条带	洗杂不完全	延长洗涤时间, 增加洗涤次数
	缓冲液离子浓度低, 大量非特异性吸附	增加盐浓度, 降低非特异性吸附
	标签蛋白被蛋白酶部分降解	加入蛋白酶抑制剂, 建议在裂解溶液中加入1mM PMSF
	分子伴侣可能被共纯化	分子伴侣参与细胞中新生成的蛋白的正确折叠, 难以避免
柱子堵塞	重组蛋白结晶或聚集	稀释样品, 调节缓冲液
	样品中含有大量杂质	提前样品预处理, 如超速离心、过滤等, 来去除杂质
	样品粘稠, DNA含量高	样品超声破碎处理或者加入DNA裂解酶I

仅供科研使用, 不用于动物或人类诊断或治疗用途