



新一代高产量重组蛋白纯化填料

Strep-Tactin® XT Sepharose™

引言

Strep-tag®II 是一个由 8 个氨基酸组成的标签，可以将其放置在目标蛋白质的 C 或 N 末端以实现蛋白质的捕获和纯化。标签的分子量很小，这意味着它不会影响靶蛋白的完整性，从而将纯化后去除标签的需求降至最低。Strep-tag II 和串联版本 Twin-Strep-tag® 可在生理条件下使用，从而形成适用于各种蛋白质的标签系统。

Strep-Tactin XT Sepharose 是 StrepTactin Sepharose High Performance (HP) 填料的进一步开发，具有更高的亲和力，并能够在变性条件下进行纯化。Strep-Tactin XT 提供 1 和 5 mL 预装柱以及散装填料。Strep-Tactin XT 配体可提高蛋白质产量，并最大程度减少有价值的目标蛋白质的损失。此外，高结合特异性仅需一个纯化步骤即可实现高目标蛋白纯度。

Strep-Tactin XT Sepharose 和 StrepTactin

Sepharose HP 的实验结果对比

分别用预装了 Strep-Tactin XT Sepharose 填料的 StrepTrap™ XT 1 mL 层析柱和装有 StrepTactin Sepharose HP 的 StrepTrap HP 1 mL 层析柱，纯化 3 mg GAPDH Strep-tag II。比较了两种填料/层析柱的蛋白纯化产率和纯度。

结果

SDS-PAGE (图 1) 显示两根层析柱的纯度均较高。洗脱液的吸光度测量结果显示，使用 StrepTrap XT 可回收 98% 的目标蛋白，而使用 StrepTrap HP 可回收 84% 的目标蛋白。

Columns: StrepTrap XT 1 mL
StrepTrap HP 1 mL
Sample: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH Strep-tag II, tetramer, M_r 37,400/subunit), 1 mg/mL in *E. coli* lysate
Sample volume: 3 mL
Binding buffer: 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0
Elution buffer: StrepTrap XT: 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 50 mM biotin, pH 8.0 StrepTrap HP: 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 2.5 mM desthiobiotin, pH 8.0

Flow rate: 1 mL/min
System: ÄKTA™ pure 25

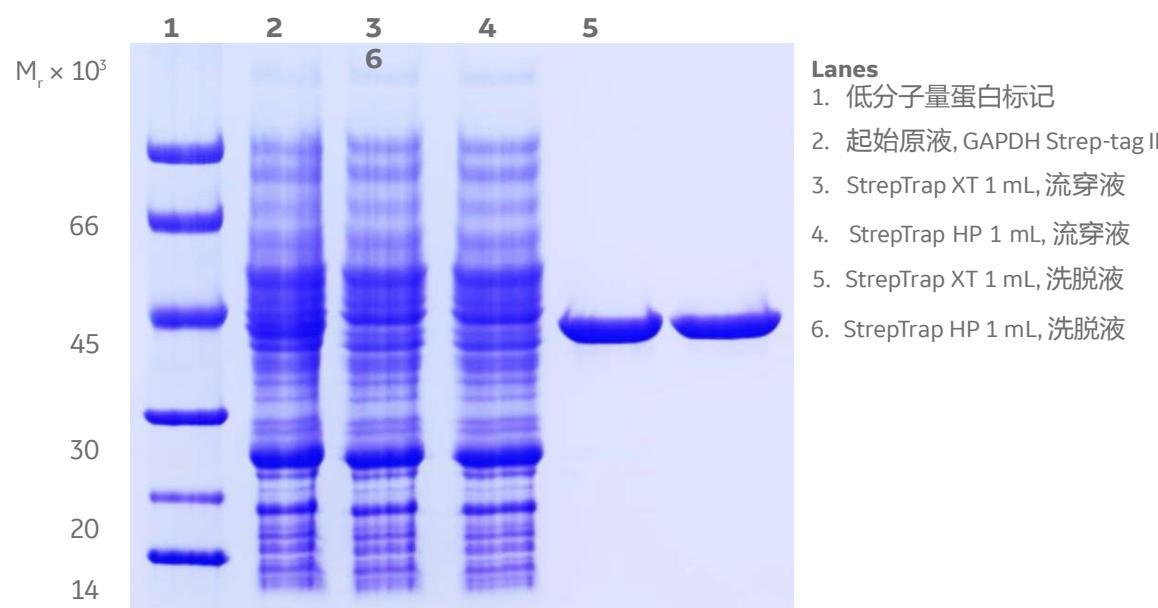


图 1. StrepTrap XT 1 mL 和 StrepTrap HP 1 mL SDS-PAGE 分析 (考马斯亮蓝染色) 对比
两根层析柱的纯度均较高。

在 ÄKTA go 蛋白纯化系统上用 StrepTrap XT 预装柱纯化高产量蛋白质

在连接 ÄKTA go 系统的 StrepTrap XT 5 mL 层析柱上，从 30 mL 大肠杆菌裂解物中成功纯化了重组 GAPDH Strep-tag II 蛋白。

使用 ÄKTA go 系统中的预定义方法加速纯化

UNICORN™ 中可用于 ÄKTAgo 的预定义方法使轻松创建自动化方法成为可能 (图 2)。

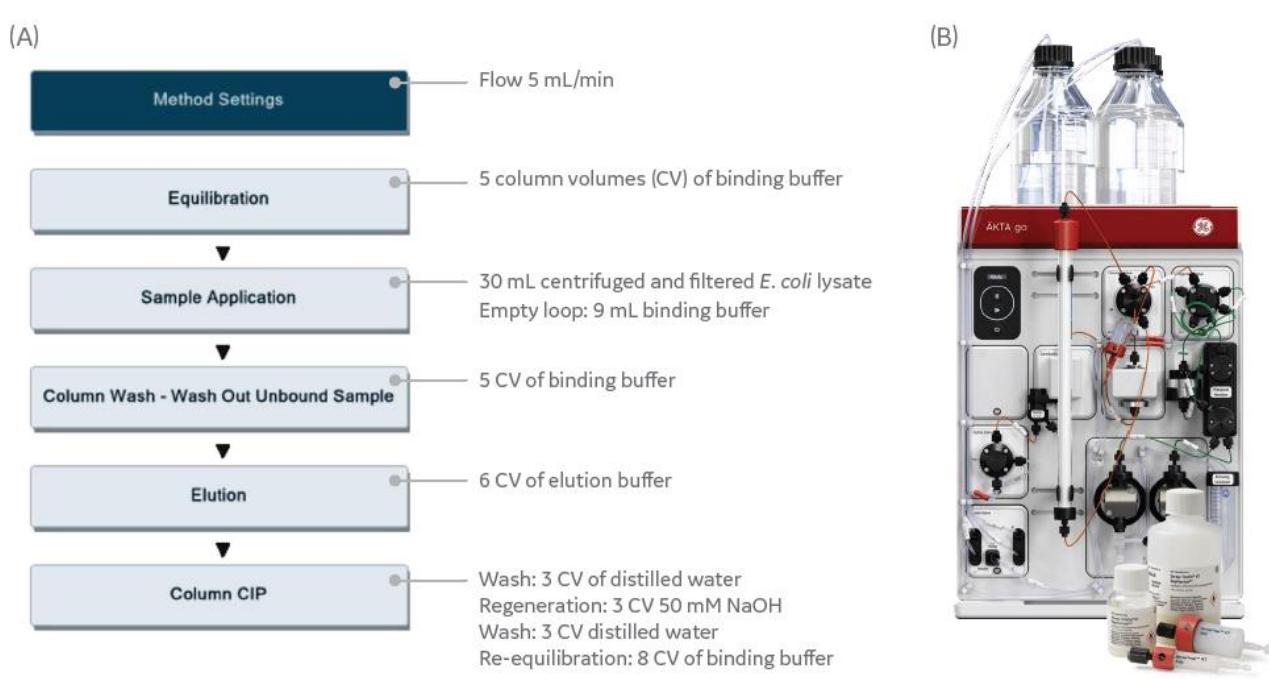


图 2. (A) UNICORN 软件中亲和层析的预定义方法。使用可选的多进样口 A 阀在 CIP 阶段使用三种不同溶液进行层析柱的再生。 (B) ÄKTAgo 蛋白纯化系统， StrepTrap XT 层析柱和 Strep-Tactin XT Sepharose 亲和层析填料。

结果

Strep-tag II 重组蛋白的使用简化了纯化过程，一步纯化即可达到理想纯度 (图 2)。使用 5 mL StrepTrap XT 层析柱可实现高回收率 (29.2 mg) 和高纯度。预定义的方法简化了方法的创建并实现了快速启动。

Column: StrepTrap XT 5 mL
Sample: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH Strep-tag II, tetramer, M_r 37 400/subunit), 1 mg/mL in *E. coli* lysate
Sample volume: 30 mL
Binding buffer: 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0
Elution buffer: 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 50 mM biotin, pH 8.0
Regeneration: 3 column volumes (CV) distilled water, 3 CV 50 mM NaOH, 3 CV distilled water
Flow rate: 5 mL/min
System: ÄKTA go

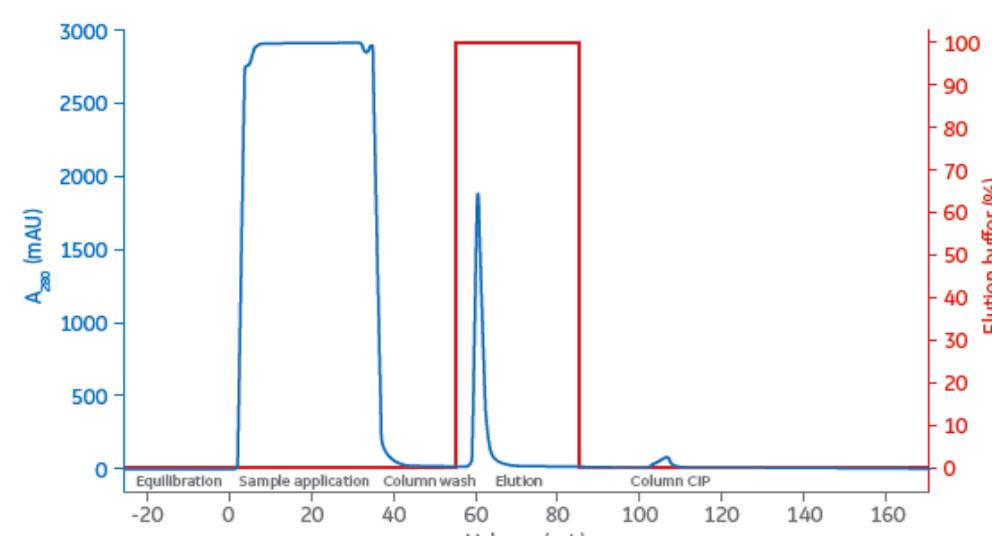


图 3. 层析图谱显示在 StrepTrap XT 5 mL 层析柱上纯化了 30 mg 的 GAPDH Strep-tag II。

结论

- 新型 Strep-Tactin XT Sepharose 填料对 GAPDH Strep-tag II 具有更高的亲和力，与之前的 StrepTactin Sepharose HP 相比，其回收率约为 98%，后者的回收率仅为 84%。
- 使用新型的 Strep-Tactin XT Sepharose 亲和层析填料，只需一步即可将有价值的目标蛋白的损失降到最低，并实现 > 95% 的高目标蛋白纯度。
- UNICORN 控制软件中的预定义方法使在 ÄKTA go 蛋白纯化系统的自动纯化更加简单高效。