



Strep-Tag II 检测试剂（HRP 偶联物）

● 产品说明

Strep-Tag II 检测试剂是偶联了 HRP 的能够与 Strep-Tag II 高效结合的蛋白，是用于检测带有 Strep-Tag II 和 Twin-Strep-Tag II 标签蛋白的产品。该产品与 Strep-Tag II 标签的亲和力可达到 nM 水平，与 Twin-Strep-Tag II 标签的亲和力高达 pM 水平。

由于该产品非抗体类蛋白，不需要匹配种属特异的二抗，避免了繁琐的二抗孵育步骤。同时由于与标签蛋白的高亲和力特性，室温孵育 1.5 小时即可充分完成检测试剂与被检测样品的反应，大大缩短了 WB 等实验的操作时间。

注意：由于检测试剂可以与生物素结合，实验操作过程中，封闭液和稀释液建议使用 5% BSA，避免使用脱脂牛奶。

● 产品属性

反应：高效结合 Strep-Tag II，Twin-Strep-Tag II 以及生物素，亲和力达到 nM-pM 水平。

偶联物：HRP

浓度：1 mg/ml

规格：100 μ l

货号：KTSM1550

应用：Western Blot，ELISA

稀释比例：1/5000-1/20000

储存条件：-20 $^{\circ}$ C

储存液：10 mM PBS，含 0.05% 蔗糖，0.1% 海藻糖，0.01% proclin300，45% 甘油

● 使用说明：Western Blot 操作步骤

➤ 电泳(Electrophoresis) 准备

1. SDS-PAGE 凝胶配制
2. 根据目的蛋白的大小配置 10%-15% 的 SDS-PAGE 凝胶。

➤ 样品处理

在收集的蛋白样品中加入适量浓缩的 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液。蛋白样品经 100 $^{\circ}$ C 或沸水浴加热 3-5 分钟，以充分变性蛋白。



➤ 上样与电泳

冷却到室温后, 把蛋白样品直接上样到 SDS-PAGE 胶加样孔内即可。电泳时通常推荐在上层胶时使用低电压恒压电泳, 而在溴酚蓝进入下层胶时使用高电压恒压电泳。对于 Bio-Rad 的标准电泳装置或类似电泳装置, 低电压可以设置在 80-100V, 高电压可以设置在 120V 左右。也可以采用整个 SDS-PAGE 过程恒压的方式, 通常把电压设置在 100V, 设定定时时间为 90-120 分钟。

通常电泳时溴酚蓝到达胶的底端处附近即可停止电泳, 或者可以根据预染蛋白质分子量标准的电泳情况, 预计目的蛋白已经被适当分离后即可停止电泳。

➤ 转膜(Transfer)

Western 实验中选用 PVDF 膜或硝酸纤维素膜(NC 膜)。

如果使用标准湿式转膜装置, 可以设定转膜电流为 300-400mA, 转膜时间为 30-60 分钟。

在半干转条件下, 可以设定转膜电流为 320mA, 转膜时间为 30 分钟。

具体的转膜时间要根据目的蛋白的大小而定, 目的蛋白的分子量越大, 需要的转膜时间越长, 目的蛋白的分子量越小, 需要的转膜时间越短。

➤ 封闭(Blocking)

从转膜完毕后所有的步骤, 一定要注意膜的保湿, 避免膜的干燥, 否则极易产生较高的背景。

转膜完毕后, 把蛋白膜放置到预先准备好的 TBST 中, 漂洗 1-2 分钟, 以洗去膜上的转膜液。加入封闭液(含 5%BSA 的 TBST), 在摇床上缓慢摇动, 室温封闭 2 小时。

➤ 检测反应(Reaction)

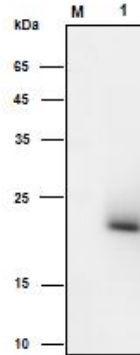
按照适当比例(1/5000-1/20000)用含 5% BSA 的 TBST 稀释 Strep-Tag II 检测试剂。去掉封闭液后, 立即加入稀释好的 Strep-Tag II 检测试剂, 室温在侧摆摇床上缓慢摇动孵育 1.5 小时, 也可以 4°C 缓慢摇动孵育过夜。孵育完毕后用 TBST 缓冲液洗涤 3 次, 每次 5 min。

➤ 化学发光检测 (Chemiluminescence detection)

推荐使用超敏 ECL 化学发光底物检测试剂盒 (KTSM125) 来检测蛋白。根据试剂盒的使用说明, 在棕色管中按比例配制, 将液体均匀置于膜上用曝光机拍照, 分析。



● 应用实例



Lane 1: 表达 Strep-Tag II 标签蛋白的大肠杆菌裂解液上清。上样量为 2ug 裂解液，上样体积为 10 ul。

封闭条件: 5% BSA

反应条件: 室温孵育 1.5 h

曝光时间: 0.281 s

温馨提示:

为了您的自身安全，使用试剂前，请做好防护，如穿实验服，带手套等。本产品仅限于专业人员的科学研究使用，不得用于临床诊断或治疗，不得存放于普通住宅内。

仅供科研使用，不用于动物或人类诊断或治疗用途