

Streptavidin – Fragen und Antworten

FRAGE

ANTWORT

Eigenschaften	Eigenschaften des nativen Produkts	Natives Streptavidin ist ein Protein, das von Bakterien der Spezies <i>Streptomyces avidinii</i> produziert wird. Es ist ein Homotetramer, das über nicht-kovalente Bindungen aus vier identischen Protein-Untereinheiten zu jeweils 159 Aminosäuren aufgebaut ist. Es besitzt eine Gesamt-Molekülmasse von etwa ~ 60 kDa (aus jeweils 4 x 16,8 kDa pro Monomer). Jede der vier Untereinheiten kann mit sehr hoher Affinität (Bindungskonstante $K_a \sim 10^{14}$ – 10^{15} M^{-1}) jeweils ein Molekül Biotin (Vitamin B7) binden. Die Streptavidin-Biotin-Bindung ist eine der stärksten bekannten nichtkovalenten biologischen Bindungen.
	Aussehen und Lagerung	Lyophilisiertes Pulver von weißer Farbe, Lagerung bei -20°C.
	Löslichkeit des nativen Produkts	Das Produkt gibt eine klare, farblose Lösung bei 5 mg/ml in 0,1 M NaCl und ist löslich in Wasser bei 1 mg/ml oder in Phosphat-gepufferter Saline.
	Wie stabil ist das Streptavidin-Tetramer in Lösung?	Wenn Streptavidin einfach bei Raumtemperatur in einem nicht denaturierenden Puffer gelöst wird, liegt das Molekül als stabiles Tetramer vor. Die monomere und dimere Form ist für seinen biologisch nativen Biotin-Bindungsprozess nicht relevant. Monomeres Streptavidin kann in vitro zum Nachweis von Biotin unter Bedingungen verwendet werden, unter denen die Streptavidin-vermittelte Zielaggregation ein Problem darstellt. Die dimerisierte Form ist ein häufig verwendeter Mechanismus bei der Zelloberflächensignalisierung, der in vitro durchgeführt wird. Aufgrund seiner biochemischen und biophysikalischen Eigenschaften wird Streptavidin aufgrund seines niedrigen molekularen Energieniveaus immer zu Tetrameren aggregieren, um mit dem Zielmolekül Biotin zu aggregieren.
	Wieviel Schwefel ist im Streptavidin enthalten?	Die monomere Kernsequenz (von T/Thr-20 bis F/Phe-130) enthält keine Seitenketten von Methionin (M/Met) oder Cystein (C/Cys). Die initiale Flankensequenz kann 1-2 Methionin-Seitenketten enthalten.
Sonstiges	Wie viel Salz enthält das Produkt?	Das Produkt enthält 0,9 mg Protein/mg Lyophilisat, der Rest besteht aus Natriumchlorid (NaCl); das bedeutet, dass jedes mg lyophilisiertes Produkt 0,1 mg NaCl (10 %) enthält. Es wird jedoch der Proteingehalt abgemessen. Bei einem Kauf von 5 mg Streptavidin werden auch 5 mg Streptavidin-Lyophilisat plus zusätzliches Salz geliefert. Die Informationen über den NaCl-Zusatz werden hinzugefügt, falls der Endverbraucher das Produkt abwägt.
	In welchen Eigenschaften unterscheidet sich das native vom rekombinanten Produkt?	Die Stabilität gegen Denaturierungs- und Löslichkeitseigenschaften der monomeren Streptavidin-Kernsequenz (von Thr-20 bis Phe-130) ist im nativen Produkt etwas geringer.
	Was ist der Unterschied zu Avidin?	Streptavidin und Avidin haben eine ähnliche Bindungsaffinität zu Biotin, aber wesentliche Unterschiede in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften. Im Gegensatz zu Avidin, einem basischen Glykoprotein aus dem Eiklar vieler Vogel- und Amphibieneier, welches einen isoelektrischen Punkt von 9.47 zeigt und ebenfalls Biotin binden kann, hat Streptavidin einen isoelektrischen Punkt von 6.03. Damit ist Streptavidin näher dem neutralen Bereich. Wegen seiner geringeren Gesamtladung und weil Streptavidin keine Glykosylierung trägt und daher nicht an Kohlenhydrat-Rezeptoren binden kann, sind unspezifische Bindungen in Streptavidin-Systemen seltener als bei der Verwendung von Avidin.
	Produktion	Das Produkt wird hergestellt in USA. Beim Fermentationsprozess wird ein Zellkulturmedium verwendet, welches bovines Serum enthält. Das Produkt ist ein lyophilisiertes Pulver, das ~0,9 mg Protein/mg Lyophilisat enthält und mit NaCl ausgeglichen ist.

