V02

谷胱甘肽-琼脂糖凝胶说明书

货号： S9360

规格： 10ml

保存： 2-8℃保存，有效期 1 年。

产品介绍：

pGEX 系列表达载体表达的融合蛋白与谷胱甘肽 S-转移酶结合，因此可以通过谷胱甘肽-琼脂糖亲和层析进行纯化。pGEX 是一类以谷胱甘肽（γ-谷胱甘肽半胱胺酰甘氨酸）作为底物，通过形成硫醇尿酸失活毒性小分子的酶。由于 GST 对底物的亲和力是亚豪摩尔级的，因此谷胱甘肽-琼脂糖凝胶亲和层析填料纯化 GST 融合蛋白的纯化效率很高。可以用含游离谷胱甘肽的缓冲液洗脱结合 GST 融合蛋白。

类型	GST 琼脂糖凝胶 4FF
吸附载量	5-10 mg 谷胱甘肽-S-转移酶
介质颗粒大小	45-165μm
最大流速	100 cm/h
pH 范围	4-12
化学稳定性	0.1 M NaOH
保存温度	2-8℃

*检测条件： 层析柱 10mm×200mm *柱床高 5cm ，25℃

1 使用

1.1 缓冲液制备

所有缓冲液需要用 0.45um 的过滤器过滤。常用下面的缓冲液，适用于大部分 GST 融合蛋白： 结合缓冲液 A：PBS，pH 7.3
洗脱缓冲液 B：50mM Tris-HCl，10mM 还原型谷胱甘肽，pH 8.0

1.2 样品制备

在将样品上样之前 ，应将样品用 0.45um 过滤器进行过滤或离心。如果样品太粘稠，应用结合缓冲液稀释，以防止堵塞色谱柱。

1.3 柱纯化

1.3.1 装柱

（1）让所有的材料和试剂均平衡至层析实验的温度。配制缓冲液，对所有的缓冲液进行脱气处理（注意：填料不可以超声脱气）。
（2）检查层析柱所有部件，特别是过滤网，密封圈，螺旋塞是否紧密，玻璃管是否干净和完整。
（3）根据需要量取相应量的凝胶，用去离子水清洗掉 20%乙醇。
（4）将柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位，务必使底端无气泡。

Tel: 400-968-6088 https://www.solarbio.com E-mail: sales-china@solarbio.com
Address: No. 85, Liandong U Valley, Middle Zone, 101102, Tongzhou Dist, Beijing, China

（5 ）用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内 ，注意勿使产生气泡。打开柱子出液口 ，使凝胶在柱内自由沉降 ，连结好柱子顶端柱头。

1.3.2 平衡色谱柱

用 5-10 个柱体积的结合缓冲液平衡该柱，直到流出液电导和 pH 不变。

1.3.3 上样

（1）样品用平衡液配制，样品一定要离心或过滤后上样。盐浓度太大的样品需要处理后再上样。
（2 ）一般情况是让目标产品结合在柱子上，用平衡液洗去杂质和没有结合的蛋白，再选择一种洗脱液洗下目标产品。

1.3.4 洗脱

洗脱缓冲液使用阶梯梯度或线性梯度洗脱。对于洗脱步骤，5 个柱体积的洗脱缓冲液通常就足够了。对于线性梯度洗脱，适当增加洗脱步骤。

2 注意

（ 1 ）影响 GST 标记蛋白或其他谷胱甘肽结合蛋白与谷胱甘肽琼脂糖 4B 结合的最重要的参数之一是流速。由于 GST 和谷胱甘肽之间的相对较慢的结合动力学，重要的是在样品使用期间保持低流速以获得最大结合能力。蛋白质特性，pH 和温度是可能影响结合能力的其他因素。
（ 2 ）用于洗脱的体积和时间可随标记的蛋白质而变化。可能需要更高浓度的谷胱甘肽的额外洗脱。 如果需要，应使用 SDS-PAGE 与 Western 印迹组合监测洗涤和洗脱物质中的 GST 融合蛋白。
（3）不建议纯化包涵体。

3 在位清洗

如果填料似乎失去结合能力，则可能是由于沉淀，变性或非特异性结合蛋白的积累。
去除沉淀或变性物质：用 2 倍柱体积的 6M 盐酸胍洗涤，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS（pH7.3）洗涤。

4 保存

4-8℃密闭保存。使用完的填料，用纯水彻底冲洗至少 5 个柱体积，最后保存在 20%乙醇中，4-8℃保存。

注意事项：
（ 1 ）上样之前，样品必须经过膜过滤及去除色素，否则杂质及色素会被吸附到填料上，影响填料的正常使用。所有的缓冲液均需要用 0.45um 的过滤器过滤。
（2）在使用过程中，避免使用高浓度的强酸强碱，酸和碱的浓度应低于 0. 1 摩尔。碱会使流速变慢。
（3）不同的样品， 吸附和洗脱方法不相同，可以根据相关的文献进行。

本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。
For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.