

GSTSep Glutathione MagBeads GST 标签蛋白纯化磁珠

产品信息

产品名称	产品编号	规格
GSTSep Glutathione MagBeads GST 标签蛋白纯化磁珠	20562ES03	1 mL
	20562ES08	5 mL
	20562ES25	25 mL

产品描述

GST 标签蛋白纯化磁珠是一种专为高效、快速纯化谷胱甘肽巯基转移酶(GST)融合蛋白而设计的一种新型超顺磁性微球产品,具有快速磁响应性、丰富羟基官能团和粒径相对集中等特点。该磁珠可通过磁性分离方式直接从生物样品中一步纯化出高纯度的目标蛋白,极大地简化纯化工艺和提高纯化效率,适合科研和工业领域便捷地进行 GST 融合蛋白的纯化。

本品特异性好,性价比高,可以一步从细菌、酵母菌或哺乳动物天然细胞裂解物中纯化谷胱甘肽-S-转移酶、谷胱甘肽依赖性蛋白和谷胱甘肽重组衍生物。GST 是重组蛋白制备过程中常用的一种标签蛋白,以辅助目的蛋白表达、检测、纯化。

同时,在使用磁性分离法的 Pull-down 实验中,充当“诱饵蛋白”的重组 GST 融合蛋白通过亲和作用与磁珠结合,当目标蛋白与固相载体混合时,就可被诱饵蛋白吸附,在磁力下,目标蛋白就从表达体系中分离出来,使用该磁珠进行 GST Pull-down 实验,由于磁性分离不需要多次离心和较长的孵育时间,与传统的层析法相比,操作更简单、快速和自动化。

产品性质

基质	磁性琼脂糖微球
配体	Glutathione (谷胱甘肽)
载量	5-10 mg GST 标签融合蛋白/ mL 磁珠
粒径	30-100 μm
磁珠浓度	磁珠悬浮于保护液中,含量为 20%
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1 \times PBS

运输和保存方法

冰袋运输。4 $^{\circ}\text{C}$ 长期储存,有效期 2 年。

注意事项

- 1.磁珠保存过程中避免冷冻、干燥和高速离心等操作。
- 2.磁珠使用前,请充分震荡,使磁珠保持均匀的悬浮状态。
- 3.使用过的磁珠重复使用时,建议纯化同一种蛋白,纯化不同种蛋白时,建议使用新磁珠,以避免交叉污染。
- 4.为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 5.本产品仅作科研用途!

使用方法

一、缓冲液配制

1.平衡液/洗杂液: PBS, pH 7.4 (140 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na_2HPO_4 , 1.8 mM KH_2PO_4 , pH 7.4)

2.洗脱液: 50 mM Tris-HCl, 10 mM-20 mM 还原型谷胱甘肽, pH 8.0

二、样本制备

【注】样品在上样前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质。

2.1 细菌或酵母表达的蛋白

1) 将培养液转移到离心杯中，7,000 rpm (7,500 xg)，离心 15 min 收集菌体，然后按照菌体：平衡液=1:10 (W/V) 加入平衡液，加入终浓度为 1 mM 的 PMSF。加入溶菌酶，使其工作浓度为 0.2-0.4 mg/mL。如果表达的宿主细胞内含 pLysS 或 pLysE，可以不加溶菌酶。

2) 同时也可加入其他蛋白酶抑制剂，但不能影响目的蛋白与磁珠的结合。

3) 将菌体沉淀悬浮起来，（如果菌液浓度高，也可考虑加入 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ RNase A 和 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DNase I），混匀，冰上超声破碎细胞，至菌液基本保持澄清。

4) 将澄清的破碎液转移至离心管中，10,000 rpm (15,000 xg)，4°C 离心 20-30 min。取上清，置于冰上备用或 -20°C 保存。

2.2 酵母、昆虫和哺乳细胞分泌表达可溶性蛋白

1) 将细胞培养液转移至离心杯中，5,000 rpm (3,800 xg)，离心 10 min，收集菌体得上清，即可直接使用。

2) 对于大量体积的上清，需加入硫酸铵沉淀浓缩后，然后用 Lysis Buffer 透析后才能上样。

三、磁珠准备

1. 可根据目标蛋白产量和磁珠载量信息来准备适量的磁珠（磁珠体积为总体积的 20%），将磁珠反复颠倒，充分混匀，使用移液器取适量的磁珠悬浮液，置于离心管中，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。

2. 将离心管从磁分离器上取下来，加入与悬浮液等体积的平衡液，使用枪头反复吹打 5 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液，重复洗涤 2 次。

四、GST 标签蛋白纯化

1. **结合** 将备好的样本加入到处理好的磁珠中，反复颠倒混匀。将离心管置于混合仪上，室温孵育 30 min 以上（也可根据结合效果调整，延长孵育时间）。

2. **洗杂** 将离心管置于磁分离器，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器移出上清液，保留，以备取样检测。向离心管中加入 5 倍悬浮液体积的洗杂液，使用枪头反复吹打 5 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。至少重复上述步骤 2 次。

3. **洗脱** 在上述离心管中加入 3-5 倍磁珠体积的洗脱液，用移液器吹打 5 次，然后在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管，5-10 min 后，置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸取上清液，收集洗脱组分，即为目标蛋白。重复操作两次，分别收集洗脱组分，留待检测。

4. **磁珠保存** 使用后的磁珠用 1 mL 洗脱液重悬磁珠，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。该操作重复两次。再加入 1 mL 平衡液，悬浮磁珠，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。再加入 4 倍磁珠体积的 20% 乙醇，置于 4°C 保存。

五、Pull-Down 实验

1. **磁珠结合诱饵蛋白** 将含有 GST 标签诱饵蛋白的样品加入到备好的磁珠中，颠倒混匀。将离心管置于混合仪上，室温孵育 30 min 以上（时间可根据结合效果调整）。

2. **洗杂** 将离心管置于磁分离器，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器移出上清液，保留，以备取样检测。向离心管中加入 5 倍悬浮液体积的洗杂液，使用枪头反复吹打 5-10 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。重复上述步骤 2 次。即得到 GST 诱饵蛋白-磁珠复合物。

3. **目标蛋白与诱饵蛋白-磁珠复合物结合** 将含有目标蛋白的样品加入到处理好的诱饵蛋白-磁珠复合物中，颠倒混匀。将离心管置于混合仪上，室温孵育 30 min 以上（时间可根据结合效果调整）。

4. **洗杂** 将离心管置于磁分离器，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器移出上清液，保留，以备取样检测。向离心管中加入 5 倍悬浮液体积的洗杂液，使用枪头反复吹打 5-10 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。重复上述步骤 2 次。目标蛋白通过与诱饵蛋白的结合，从混合体系中被捕获。

5. **目的蛋白的洗脱** 在上述离心管中加入 3-5 倍磁珠体积的洗脱液，用移液器吹打 5 次，然后在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管，5-10 min 后，置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸取上清液，收集洗脱组分，即得到靶蛋白和目标蛋白复合物。再重复操作两次，分别收集洗脱组分，留待检测。