

## GST 标签蛋白纯化琼脂糖磁珠 Glutathione Magnetic Agarose Beads

本产品 4℃ 运输; 保存于 4℃, 禁止产品冻结, 长期存放请保证试剂管竖立向上, 保质期 24 个月。

### 货号规格

YJ107 1 mL×5

### 产品简介

GST 标签蛋白纯化琼脂糖磁珠是一种新型功能化材料, 用于高效、快速纯化 GST 融合蛋白, 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, 操作起来简便高效。

### 产品参数

项目	参数
配体	谷胱甘肽
载量	> 10 mg GST 蛋白 (30 kDa)
粒径	30~100 μm
储存缓冲液	20% 乙醇
体积	5 mL (琼脂糖磁珠占 20%)

### 自备试剂

缓冲液	推荐配方
洗脱缓冲液	50 mM Tris-HCl, 10 mM reduced glutathione, pH 8.0

注: ① 所用去离子水和缓冲液在使用前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤, 减少杂质, 以提高蛋白纯化效率;

② 洗脱缓冲液中可加入 1~10 mM DTT, 以提高纯化效率。

### 操作步骤

#### ◆ 样本处理 (以大肠杆菌表达系统为例)

1. 离心收集大肠杆菌 (4℃, 4,000×g, 30 min), 弃上清;
2. 用冷 1×PBS (货号: PS110) 重悬细胞, 如果需要, 可加入适量的添加剂, 如非离子去污剂 (NP-40) 或蛋白酶抑制剂 (货号: GRF101);
3. 用超声波破碎法在冰上破碎菌体, 直到样品破碎完全;
4. (可选) 如果裂解物太过粘稠, 可以加入 RNase A (终浓度 10 μg/mL) 和 DNase I (终浓度 5 μg/mL) 并在冰上孵育 10~15 min;
5. 离心收集上清 (4℃, 12,000×g, 20 min);
6. SDS-PAGE 分析 GST 融合蛋白的含量及可溶性;

#### ◆ 磁珠预处理

琼脂糖磁珠的使用量可根据目的蛋白产量和磁珠载量信息计算获得。例如: 采用大肠杆菌表达某目的蛋白, 通过预实验估算目的蛋白产量为 2~5 mg, 则需要取 5 mL 10% 的磁珠悬液用于目的蛋白的纯化。以下即以此为例进行详细说明:

7. 将 **GST 标签蛋白纯化琼脂糖磁珠** 置于漩涡混匀器上充分混匀, 用移液器取 5 mL 磁珠悬液, 转移至离心管中, 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上后, 吸弃上清;

- 加入 5~10 mL 冷 1×PBS (货号: PS110), 漩涡振荡 30 s, 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上后, 吸弃上清;
- 重复步骤 8 两次;

#### ◆ 磁珠与目的蛋白结合

- 结合:** 将步骤 5 制备好的含有 GST 融合蛋白的上清液加入预处理好的磁珠, 漩涡振荡 15 s, 置于翻转混合仪上孵育 (2~8°C 20~30 min, 如果需要可延长至 1 h), 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上, 溶液变澄清后, 把上清液转移到新的离心管中备用 (上清液可用于检测蛋白是否存在残留), 离心管中剩余的即为 **目的蛋白-磁珠复合物**;
- 漂洗:** 在上一步得到的 **目的蛋白-磁珠复合物** 中加入 5~10 mL 冷 1×PBS, 置于翻转混合仪上孵育 (常温 2 min), 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上, 溶液变澄清后, 把上清液转移到新的离心管中备用 (上清液可用于检测蛋白是否存在残留)。再重复此步骤一次;

#### ◆ 洗脱

- 向漂洗后的 **目的蛋白-磁珠复合物** 中加入 2~5 mL **洗脱缓冲液**, 置于翻转混合仪上孵育 (常温 10 min, 可根据具体情况适当延长时间), 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上, 收集上清到新的离心管中, 即为纯化的目标蛋白样品;

**注:** 洗脱液可以通过 4°C 透析或者分子筛去除游离的谷胱甘肽。

#### ◆ 磁珠保存

**GST 标签蛋白纯化琼脂糖磁珠** 可以重复使用, 但随着使用次数增多, 非特异性结合的蛋白聚集往往会造成蛋白结合载量的下降, 这时便需要对琼脂糖磁珠进行清洗。

- 向使用后的琼脂糖磁珠中加入 1~3 倍其体积的 **洗脱缓冲液**, 用移液器反复吹打 5 次, 使磁珠彻底重悬, 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上, 溶液变澄清后, 吸弃上清。再重复此步骤两次;
- 向离心管中加入 1~3 倍琼脂糖磁珠体积去离子水, 用移液器反复吹打 5 次, 使磁珠彻底重悬, 接着在磁力架上静置 1 min, 待磁珠吸附到离心管侧壁上, 溶液变澄清后, 吸弃上清。再重复此步骤两次;
- 在琼脂糖磁珠中加入 20% 乙醇, 使总体积等于初始悬浮液体积, 置于 4~8°C 保存。

## 蛋白纯化流程的优化

由于不同蛋白与磁珠结合性能不同, 为了提高目的蛋白的回收率和纯度, 可从以下方面进行优化:

- 延长蛋白溶液与磁珠孵育的时间; 延长漂洗时间或增加漂洗次数; 延长洗脱时间或增加洗脱次数;
- 样品及缓冲液中加入 1~10 mM 的 DTT, 有助于提高部分 GST 融合蛋白与磁珠的结合;
- 在样品溶液和缓冲液中加入 0.1% 的 Tween-20 或 2% 的 NP-40 可降低非特异蛋白的吸附;
- 增加磁珠用量;
- 采用梯度浓度还原型谷胱甘肽洗脱目的蛋白。

## 注意事项

- 琼脂糖磁珠使用前应充分混匀;
- 琼脂糖磁珠应保存在储存溶液中, 防止干燥;
- 请勿将琼脂糖磁珠冷冻或离心, 以免引起不可逆聚集;
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
- 本产品仅限科研使用。

版本号: 20113