

## Biolinkedin® GST 标签蛋白琼脂糖磁珠

### 包装清单

名称	货号	包装
GST 标签蛋白 琼脂糖磁珠	L-2004	2mL ( 1mL 实体积 )
	L-2004A	10mL ( 5mL 实体积 )
	L-2004B	25mL ( 12.5mL 实体积 )

### 产品概述

Biolinkedin® GST 标签蛋白琼脂糖磁珠是专为高效、快速纯化 GST 标签蛋白而设计的新型磁性微球产品，可以在磁场作用下直接从生物样品中一步纯化出高纯度的目标蛋白，极大的简化了纯化工艺和提高纯化效率，适合科研和工业客户高通量地进行 GST 标签蛋白的纯化。

与传统的柱层析方法相比，使用 GST 标签蛋白琼脂糖磁珠无需控制上样流速，更不需要昂贵的层析设备和离心设备，样品与磁珠的结合以及目的蛋白与磁珠的分离变的非常简单、快捷，而且更容易实现高通量、自动化的蛋白纯化方法。

Biolinkedin® GST 标签蛋白琼脂糖磁珠是由高度交联的 4% 琼脂糖磁珠为基质 通过 12 个原子的间隔臂，用化学方法共价结合了还原型谷胱甘肽制作而成，用于纯化各种表达系统融合表达的 GST 标签重组蛋白。

### 产品特性

基质	高度交联的 4% 琼脂糖磁珠
配体	谷胱甘肽
载量	5~10mg GST 蛋白
粒径	30~100µm
耐压流速	80~150cm/h ( 0.3MPa, 3bar )
磁珠浓度	磁珠体积占悬浮液体积的 50%
储存缓冲液	含 20% 乙醇的 1×PBS
保质期	在 2~8°C 稳定保存两年

### 操作流程

#### 1. 准备 buffer

结合/洗涤缓冲液和洗脱缓冲液等缓冲液请自行准备或购买我司 GST 标签蛋白纯化试剂盒。

#### 2. 样品准备

以大肠杆菌表达系统，500mL 诱导菌液为例。

- 1) 4°C 离心 30min ( 4000xg ) 收集菌体，弃上清。
- 2) 用预冷结合/洗涤缓冲液重悬菌体，如果需要，可加入适量的抑制剂，如蛋白酶抑制剂 ( PMSF ) 或其他蛋白酶抑制剂等。
- 3) 用超声波破碎法在冰上破碎菌体，直到样品破碎完全。
- 4) 4°C 离心 20min ( 12,000xg )，分离上清和沉淀，并过滤除杂。将上清和沉淀留样以备后续检测。

#### 2. 纯化重组 GST 标签融合蛋白

- 1) 将 GST 标签蛋白琼脂糖磁珠充分混匀，取 2mL 磁珠悬浮液，置于 50mL 离心管中，再加入 10mL 结合/洗涤缓冲液，充分混匀后，磁性分离，弃上清，重复上述步骤 1 次。
  - 3) 将制备好的含有 GST 标签的融合蛋白上清加入到处理好的磁珠中，混匀后将离心管置于混匀仪上，室温孵育 1~2h。(也可置于 2~8°C 孵育 2~4h 或者过夜)
  - 4) 孵育结束后，将离心管置于磁力架上，磁性分离，吸取上清，作为流穿，置于 2~8°C，以备后续检测。向离心管中加入 15mL 结合/洗涤缓冲液，置于混匀仪混匀 10~15min，然后磁性分离，吸取上清 ( 保留，以备取样检测 )。重复上述步骤 4 次。
  - 5) 加入 1mL 洗脱缓冲液，吹打混匀 10~20 次后，通过磁力架分离上清至 1.5mL 的 Ep 管收集，重复操作，分别收集 5~10 管洗脱液。
  - 6) SDS-PAGE 检测
- 将得到的样品 ( 包括流穿、洗涤液和洗脱液 ) 以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。加入适量蛋白快速染色液浸没 PAGE 胶，然后置于摇床上摇动，染色 10~30min 即可观测结果。

注：目的蛋白保存前应透析或者超滤以去除游离谷胱甘肽。再分装冻存到 -80°C。

#### 4. 磁珠再生及储存

磁珠再生步骤请参考或直接购买我司 GST 标签蛋白纯化再生试剂盒。

磁珠再生后，可以立即使用，如不立即使用需加入等体积 20%乙醇，置于 2~8°C 保存。

#### 相关产品

货号	产品名称
L-2002	GST 标签蛋白琼脂糖凝胶
L-2004	<b>GST 标签蛋白琼脂糖磁珠</b>
PK-2002	GST 标签蛋白纯化试剂盒（凝胶法）
PK-2004	GST 标签蛋白纯化试剂盒
PK-2006	GST 标签蛋白纯化再生试剂盒

#### 问题解决

问题	原因	解决方案
目的蛋白的产量低或无法检测到	蛋白可能是包涵体，上清无蛋白	可以通过电泳检测裂解液分析上清中是否含有目的蛋白，包涵体蛋白需要按照包涵体蛋白的纯化方式。
	目的蛋白可能失活	采用温和的超声破碎条件或者其他的裂解条件，比如采用溶菌酶。
	目的蛋白被蛋白酶降解	在裂解步骤或洗涤步骤加入适量的蛋白酶抑制剂，如 PMSF。
	目的蛋白不能有效地从磁珠上洗脱下来	延长洗脱时间，或者增加洗脱液中还原性谷胱甘肽的浓度至 15mM 或者更高 在洗脱液中加入 Triton X-100（终浓度 0.1%）、辛基-葡萄糖苷（终浓度 2%）或者 NaCl（终浓度 0.1~0.2 M）。
洗脱液中有较多杂带	目的蛋白被蛋白酶降解	在裂解步骤或洗涤步骤加入适量的蛋白酶抑制剂如 PMSF。
	过度的超声处理会导致一些蛋白与融合蛋白相结合	采用温和的超声破碎条件或者其他的裂解条件。
	有些蛋白会与融合蛋白或磁珠发生非特异性结合	优化洗涤条件：加入一些洗涤剂如 1% Triton X-100、1%Tween-20、0.03% SDS 或者 0.1% NP-40 可以降低非特异性吸附。提高洗涤液中的盐浓度也可以降低非特异性吸附。