

Biolinkedin® GST 标签蛋白琼脂糖凝胶

包装清单

名称	货号	包装
GST 标签蛋白 琼脂糖凝胶	L-2002	10mL (5mL 实体积)
	L-2002A	25mL (12.5mL 实体积)
	L-2002B	100mL (50mL 实体积)

产品概述

Biolinkedin® GST 标签蛋白琼脂糖凝胶是由高度交联的 4%琼脂糖凝胶为基质，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。

产品信息

基质	高度交联的 4%琼脂糖凝胶
配体	谷胱甘肽
载量	>30mg GST 蛋白
粒径	45~135μm
耐压流速	80~150cm/h (0.3MPa, 3bar)
浓度	凝胶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℃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℃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℃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标签蛋白

- 1) 轻轻重悬 **GST 标签蛋白琼脂糖凝胶**。
 - 2) 吸取 2mL 的 **GST 标签蛋白琼脂糖凝胶**加至层析柱中，用 10mL **结合/洗涤缓冲液**平衡 **GST 标签蛋白琼脂糖凝胶**。重复上述步骤 1 次。
 - 3) 关闭层析柱下出口，将制备好的含有 GST 标签蛋白上清加入到层析柱中，再盖紧层析柱上进口，建议封口膜密封。置于混匀仪上，室温孵育 1~2h。(也可置于 2~8℃孵育 2~4h 或者过夜)
 - 4) 孵育结束后，打开层析柱上下进出口，待上清液全部流出层析柱后，收集上清液，作为流穿，置于 2~8℃，以备后续检测。
 - 5) 立刻加入 10mL **结合/洗涤缓冲液**至层析柱中，收集洗杂液，置于 2~8℃，以备后续检测。重复上述步骤 4 次。
 - 6) 加入 1mL **洗脱缓冲液**，用 1.5mL 的 Ep 管收集洗脱液。分别收集 5~10 管。
 - 7) 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的谷胱甘肽，再分装冻存到-80℃。
- #### 4. 树脂再生及储存
- 凝胶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。**
- 凝胶再生后，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℃ 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	GST 标签蛋白琼脂糖磁珠
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凝胶上洗脱下来	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凝胶发生非特异性结合	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。