

GST（谷胱甘肽）琼脂糖纯化树脂

货号：Cat.No: P5107 Size: 5ml Resin (Total 10ml); Cat.No: P5108 Size: 25ml Resin (Total 50ml)

产品介绍

新赛美的 GST（谷胱甘肽）琼脂糖纯化树脂是一种专用于纯化谷胱甘肽 S-转移酶（GST）标签蛋白的亲层析介质。它以高度交联的 4%琼脂糖为基质，通过 12 个原子的间隔臂共价偶联还原型谷胱甘肽（GSH）作为配基。基于 GST 标签与 GSH 之间的特异性亲和力，该树脂能从复杂的细胞裂解液中一步纯化出高纯度的 GST 融合蛋白

技术参数

技术指标	详细参数
基质	高度交联的 4% 琼脂糖凝胶（4FF）
配基	谷胱甘肽（Glutathione），通过 12 个原子间隔臂偶联
粒径范围	45 - 165 μm
平均粒径	90 μm
动态结合载量	> 10 mg GST 融合蛋白 / mL 树脂
最大耐压	0.3 MPa (3 bar)
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8° C，切勿冷冻

注意：GST 与谷胱甘肽的结合依赖于流速。流量越低，结合能力越强。在上样和洗脱步骤中，流速也是必须要注意的。

纯化流程

缓冲液准备

平衡/洗杂缓冲液：PBS（pH 7.4）。常用配方：140 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na_2HPO_4 , 1.8 mM KH_2PO_4 。

洗脱缓冲液：用平衡/洗杂缓冲液配制 15mM 还原型谷胱甘肽（现配现用），一般谷胱甘肽溶解后 pH 会偏酸，需重新调整到 pH7.4 或 pH8.0（建议调整到 pH8.0，适当提高 pH 能提高洗脱效率）。

注意：所有缓冲液和水在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 的滤膜过滤除菌。可在缓冲液中加入 1-10 mM DTT 以维持蛋白稳定性

纯化操作流程

树脂准备：使用前充分颠倒容器，使树脂完全重悬。根据样品量吸取所需体积的悬液到层析柱中，自然流干储存液。用 5-10 倍柱体积的结合缓冲液平衡层析柱。

样品上样：将经过滤和离心澄清的样品上清加入层析柱，控制流速让目标蛋白与树脂充分结合。为确保最佳结合，建议使用较慢的流速。

洗杂：用 10-20 倍柱体积的结合缓冲液洗涤，去除未结合的杂蛋白，直至流出液在 280nm 的吸光度达到基线。

洗脱：用 1-5 倍柱体积的洗脱缓冲液进行洗脱，收集流出液，即为纯化的目的蛋白。可分段收集以得到浓度更高、更纯的产物。

清洗与保存：依次使用 3 倍柱体积的平衡缓冲液和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料，最后用 5 倍柱体积的 20%的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20%乙醇中，置于 4℃ 保存，防止填料被细菌污染。

SDS-PAGE 检测

将纯化过程中得到的样品（包括原始样品、流出组分、洗杂及洗脱组分等）利用 SDS-PAGE 进行检测，判定其纯化效果

色谱柱填装指南

用去离子水冲洗层析柱底筛板，关闭柱底出口，在柱底留出 1-2 cm 的去离子水。

将树脂悬液连续倒入层析柱，用玻璃棒沿柱壁倒入以减少气泡。

打开柱底出口，启动泵进行装填。初始流速宜慢，然后逐渐增加至目标流速。

柱床稳定后，标上柱床高度。后续使用时，流速不应超过最大装柱流速的 75%

常见问题与解决方案

问题	可能原因	解决方案
柱子反压过高	样品未完全澄清或有微粒	再次离心或过滤样品
	样品或缓冲液太粘稠	加入 DNase I 降解核酸；适当降低流速
	GST 标签蛋白变性或沉淀	1. 采用温和的裂解条件 2. 在裂解前向样品中加入 DTT（终浓度 1-20 mM）

洗脱液中无目的蛋白		以防止蛋白聚集沉淀
	融合蛋白构象改变，影响结合力。	将结合温度降低至 4° C，并确保充分的清洗步骤
	结合缓冲液 pH 值不合适	确保使用 pH 6.5-8.0 的缓冲液（如 PBS）进行充分平衡
	蛋白在裂解液中被降解	在裂解液中加入蛋白酶抑制剂，如 1 mM PMSF。也可以考虑使用蛋白酶缺陷型的宿主菌
目的蛋白没有完全洗脱下来	洗脱体积太少	增加洗脱液的体积，并降低洗脱时的流速，以延长洗脱时间
	洗脱液中谷胱甘肽浓度太低	增加洗脱液中还原型谷胱甘肽的浓度。可尝试使用 50 mM Tris-HCl, 20 - 40 mM 还原型谷胱甘肽, pH 8.0 的洗脱液