



GST亲和层析介质

产品信息:

组成	PA315	PA315-01
规格	5ml	50ml

产品介绍:

GST亲和层析介质是专门设计用于分离纯化谷胱甘肽S- 转移酶(GST)标签蛋白、其它来源谷胱甘肽S-转移酶以及和谷胱甘肽具有亲和作用的蛋白的亲和层析介质。GST亲和层析具有操作条件温和、特异性强的特点,有利于蛋白的活性保持和高纯度目标蛋白的快速制备,通常一步亲和层析即可得到高纯度的目标蛋白。

GST亲和层析介质以高交联的琼脂糖凝胶为基质,以谷胱甘肽为配基,通过间隔臂长短和配基密度的合理调控,产品具有载量高(> 9 mg GST融合蛋白/ml介质)、剪断性强、物理和化学稳定性良好、使用寿命长、易放大的特点,是研发和生产的理想选择。

产品特性:

参数	指标
基质	4%交联琼脂糖凝胶
配基	谷胱甘肽
形状	球形
平均粒径	90 μm (85-95 μm), 分布45-165μm
配基密度	2.5-3.5 mg GSH(还原型谷胱甘肽)/ml wet gel
动态载量	> 9 mg GST 融合蛋白/ml wet gel (Mr 42 kDa)
最高流速 (25℃)	450 cm/h
推荐流速	<150 cm/h
最高耐压	0.3 MPa (3 bar)
pH 稳定性	3~12

化学稳定性	在常用的水溶性缓冲液中均稳定，在70%乙醇、30%异丙醇、6M 盐酸胍、1M 乙酸（pH 4）中均稳定
储存条件	4-8 °C（20%乙醇）

产品应用：

GST 亲和层析介质广泛用于GST 融合蛋白、其它来源谷胱甘肽S-转移酶以及和谷胱甘肽具有亲和作用的蛋白的分离纯化。实际操作中可采用静态吸附、重力柱、离心柱、层析柱等模式进行蛋白质的分离纯化，其中柱层析操作自动化程度高、分离纯化效果好、重现性好，应用最为广泛。

柱层析操作通常包括装柱、平衡、进料、淋洗、洗脱、再生等步骤（以5.0 × 1.6 cm I.D.，柱高5 cm，柱体积10 ml 为例（层析柱（空柱）尺寸：20.0 × 1.6 cm I.D.））。

装柱：取适量介质放置于烧杯中，匀浆浓度约为50-60%，搅拌均匀后备用（介质和缓冲液均处于纯化时所需的温度）；清洗层析柱，排出柱底部转接头筛网/垫片上的气泡，拧紧底部的转接头，加入适量纯水至约1 cm 高度；介质搅拌均匀后用玻璃棒紧靠柱子内壁引流，将介质匀速、连续地加入到层析柱中（这可以减少气泡的产生）；介质沉降5-30 min（上层溶液澄清）后小心装上柱子顶部的转换接头（避免残留气泡和破坏胶面），然后依次以1.2 ml/min 的流速用纯水（或平衡缓冲液）压柱子各2min，最后用5 ml/min 的流速压柱子3-5 min至胶面稳定不变（可在界面处做记号便于后期观察胶面变化情况），将顶部的转换接头拧松，缓慢向下移动至胶面后拧紧转换接头。

平衡：用 5CV（柱体积）的平衡缓冲液（50 mM Tris-HCl + 0.15 M NaCl, pH 8.0，）平衡层析柱（添加适当浓度（0.1-0.2 M）的 NaCl 可抑制蛋白的非特异性吸附，添加适当浓度（1-10 mM）的 DTT 可提高部分蛋白的稳定性和结合载量），流速为2 ml/min（后续操作流速均为2 ml/min，操作流速不高于装柱流速的75%），至流出液电导和pH不变（与平衡液一致）。

进料：样品缓冲液应尽可能与平衡液一致。菌体破碎时直接采用平衡缓冲液溶解（1 g 菌体对应 5-10 ml 缓冲液）；固体样品可用平衡液溶解配制；低浓度样品溶液可用平衡液透析；高浓度样品溶液可用平衡液稀释。为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或微滤（0.45μm）处理。进料量根据介质的载量和料液中目标蛋白的含量计算（介质的动态载量与流速密切相关，较低流速有利于提高载量）。

淋洗：上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线。

洗脱：用洗脱缓冲液（50 mM Tris-HCl+10 mM GSH, pH 8.0，GSH(还原型谷胱甘肽)浓度需要根据目标蛋白的结合力进行适当调整，GSH易被氧化，现用现配，）洗脱，收集流出液。

原位清洗：介质使用数次（具体次数与原料的种类和来源及实验要求有关）后，介质上会有部分沉淀物、变性蛋白及非特异性吸附的蛋白，导致介质结合能力的下降，需要对介质进行原位清洗（100 μ m/h）。

（1）去除沉淀物及变性蛋白，可用2 CV 6 M 盐酸胍清洗，然后立即用5 CV 中性PBS 缓冲液平衡至中性。

（2）去除疏水性结合的蛋白、脂蛋白和脂类物质，可用3-4 CV 的70%乙醇或30%异丙醇清洗（20 min以上），并用3-5 CV 的纯水冲洗。

（3）也可用2 CV 0.01-0.1 M 的NaOH 清洗，然后立即用5 CV 中性PBS 缓冲液平衡至中性（优先采用方法（1）和（2）清洗）。

其它注意事项：在装柱、使用和保存柱子时，要避免柱子流干和密封不严、气泡进入。

BM20220927