GST-tag Glutathione Agarose Resin {GST标签谷胱甘肽琼脂糖纯化凝胶}

货号：BR00072

规格：5 mL/20 mL

◆ 产品简介

GST标签谷胱甘肽琼脂糖纯化凝胶适用于分离纯化 GST 标签蛋白、谷胱甘肽 S-转移酶或谷胱甘肽依赖性蛋白。

◆ 介质性能参数

介质	高度交联 4%的琼脂糖
粒径范围	45-165 μm
平均粒径 D50	90±5 μm
结合载量	≥20 mg（GST）/mL
化学稳定性	所有常用水溶液，如：1 M 醋酸盐，pH 4.0、0.1 M NaOH、70%乙醇、8 M 尿素、6 M 盐酸胍
线性流速（0.3MPa）	≥250 cm/h
操作压力	≤0.3 MPa
保存液	20%乙醇
贮存条件	4℃-8℃

◆ 产品特点

1. 快速、简单（一步纯化）；

2. 载量高、流速快、易于放大；

3. 温和的洗脱条件可以完整的保留蛋白的生物学活性。

◆ 溶液制备

1. 平衡液：0.14 M NaCl、0.0027 M KCl、0.01 M Na_2HPO_4、0.0018 M KH_2PO_4，pH 7.3。

2. 洗脱液：0.05 M Tris-HCl、0.01 M GSH，pH 8.0。

◆ 样品制备

1. 样品所在溶液要和平衡液保持一致，可以用平衡液进行裂解、透析/超滤/G25 进行缓冲液置换。

2. 样品过滤（平均粒径 < 45 μm，用 0.22 μm 过滤；45 μm < 平均粒径 < 165 μm，用 0.45 μm 过滤；平均粒径 > 165 μm，用 0.8 μm 过滤）。

◆ 纯化流程

1. 采用液滴对液滴（避免引入气泡）的方式将柱子连接到层析系统上。

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn

2. 用纯化水以 5 mL/min 的流速冲洗 5 个 CV。

3. 用平衡液以 5 mL/min 的流速冲洗 10 个 CV。

4. 将样品以 1 mL/min 的流速上样。

5. 用平衡液以 5 mL/min 的流速冲洗至紫外吸收值平稳（10-15 个 CV）。

6. 用洗脱液以 5 mL/min 的流速洗脱 10 CV。

◆ **放大**

1. 保持柱床高度不变。2. 保持线性流速不变。3. 备注：若实际情况和实验室数据有偏差，可以维持停留时间不变。

◆ **清洗**

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性物质、沉淀等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量 、流动性 、柱效等）。

建议每使用 5 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

1. 用 5 CV 1.0%Triton X-100 或 70%乙醇冲洗后，立即用 10 CV 纯化水冲洗。

2. 备注：用于去除疏水结合物质。

3. 用 5CV 8 M 尿素或 6 M 盐酸胍冲洗后，立即用 10 CV 纯化水冲洗。

4. 备注：用于去除聚集在介质中的沉淀或变性物质。

5. 用 10 CV 的 20%乙醇冲洗后保存。

◆ **常见问题及解决方案**

问题	可能原因	解决方案
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	1.上样量过载	降低上样量
	2.上样流速过快	降低上样流速
	3.蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质或更换新的介质
	4.样品在超声裂解过程中失活	采用较为温和的条件进行超声裂解
	5.样本或平衡液中 pH 不在正确的范围	保证样本和平衡液 pH 在 6.5-8.0 以内
	6.表达条件过于剧烈，目标物构象发生改变，不能与介质结合	建议做一个空载体作为表达和纯化的对照
	7. 目标物质发生聚集	在裂解前加入 1-10 mM DTT
洗脱时没有收集到目标或只收集到少量目	1. 目标物没有与介质结合或结合量较少	先确认目标物是否与介质结合

	2.洗脱条件不合适	加大 GSH 浓度到 20-40 mM，并保证洗脱液 pH 在 8.0-9.0 以内
	3.洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	4.洗脱体积过小	加大洗脱体积
	5. 目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀	检测目标物在洗脱液条件（pH）下的溶解度和稳定性。可以尝试在洗脱液中加入一些添加剂：如 0.1%Triton X-100 或 2% N-octyl glucoside
目标物纯度较低	1.样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	2.样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低粘度
	3.洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4.杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5.洗脱条件不佳，洗脱流速太快、梯度太陡	优化洗脱条件
	6. 目标物出现降解	检测目标物的稳定性
	7.柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	8.杂质出现非特异性吸附	适当选择添加剂降低非特异性吸附
	9.分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	10.介质中有微生物生长	介质使用完后，请及时正确保存介质
介质载量下降	1.上样流速过快	降低上样流速
	2.蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降	及时清洗介质
	3.使用次数过多，配基被氧化或脱落	及时清洗介质或更换新介质
色谱峰上升过陡	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰上升过缓或拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2.蛋白沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性和介质的结合效率
	3.分离柱中微生物生长	所用试剂必须经过过滤和脱气；样品上柱前必须离心或过滤

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn