Glutathione Magarose Beads

目录

1. 产品介绍.....1
2. 使用方法.....1
3. 订购信息及相关产品.....3

1. 产品介绍

琼脂糖基质磁性微球（Magarose Beads）系列产品具有超顺磁性、快速磁响应性、丰富羟基官能团和相对集中的粒径等特点，能够在特殊化学试剂的作用下将多肽、蛋白、抗体、寡聚核苷酸等生物配体共价偶联到微球表面，是医学与分子生物学研究中重要的载体工具。Smart-Lifesciences 采用独特的生产工艺技术制备出的粒径分布在 30-100 μm 左右的磁性琼脂糖微球，粒径适中，更适合生物检查和纯化实验的需求。

Glutathione Magarose Beads 以一步纯化各种表达系统表达的谷胱甘肽-S-转移酶、谷胱甘肽依赖性蛋白和谷胱甘肽转移酶的重组衍生物。同时，利用重组技术将诱饵蛋白与 GST（Glutathione S transferase）标签融合，重组融合蛋白通过亲和作用与 **Glutathione Magarose Beads** 结合，当目标蛋白与固相载体混合时，就可被诱饵蛋白吸附，在磁力下，目标蛋白就从表达体系中分离出来，使用 **Glutathione Magarose Beads** 进行 GST Pull-down 实验，操作简单、快捷，是传统方法无法比拟的。

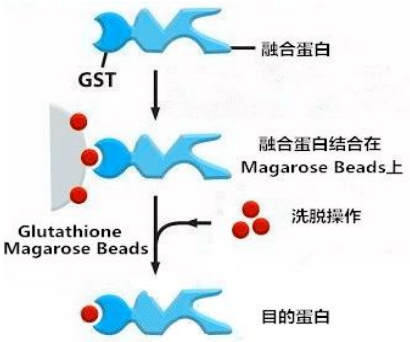
表 1. Glutathione Magarose Beads 产品性能

项目	性能
基质	磁性琼脂糖微球
配体	Glutathione（谷胱甘肽）
结合能力	＞10 mg GST 融合蛋白/ml 磁珠
粒径	30-100 μm
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
磁珠体积	磁珠体积占悬浮液体积的 20%
储存温度	2-8℃

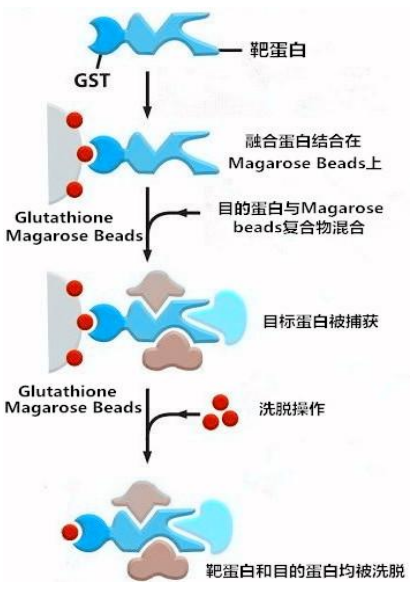
2. 使用方法

根据两种应用来介绍产品的使用方法：蛋白纯化流程和 Pull-down 流程。

纯化流程



Pull-down 流程



2.1 缓冲液准备

平衡/洗杂液：PBS，pH 7.4 (140 mM NaCl，2.7 mM KCl，10 mM Na_2HPO_4，1.8 mM KH_2PO_4，pH 7.4)

洗脱液：50 mM Tris-HCl，10 -20 mM 还原型谷胱甘肽，pH 8.0

2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

2.2.1 细菌或酵母表达的蛋白

1) 挑取单菌落到培养基中，根据载体使用说明，加入相应浓度的诱导剂诱导相应的时间。

2) 表达结束后，将培养液转移到离心杯中，7,000 rpm(7,500×g)，离心 15 min 收集菌体，然后按照菌体：平衡液=1：10（W/V）加入平衡液，加入终浓度为 1 mM 的 PMSF。加入溶菌酶（工作浓度为 0.2-0.4 mg/ml，如果表达的宿主细胞内含 pLysS 或 pLysE，可以不加溶菌酶），（同时也可加入其他蛋白酶抑制剂，但不能影响目的蛋白与填料的结合）。

3) 将菌体沉淀悬浮起来，（如果菌液浓度高，也可考虑加入 10 μg/ml RNase A 和 5 μg/ml DNase I），混匀，放置于冰上，然后冰上超声破碎细胞，至菌液基本保持澄清。

4) 将澄清的破碎液转移至离心管中，10,000 rpm(15,000×g)，4℃离心 20-30 min。取上清，置于冰上备用或-20℃保存。

2.2.2 酵母、昆虫和哺乳细胞分泌表达可溶性蛋白

1) 将细胞培养液转移至离心杯，5,000 rpm(3,800×g)，离心 10 min，收集菌体得上清，即可直接加入柱子使用。

2) 对于大量体积的上清，需加入硫酸铵沉淀浓缩后，蛋白还需用平衡液透析后才能加入柱子。

2.3 磁珠准备

1）根据产品性能指标准备适量的 Glutathione Magarose Beads（磁珠体积为总体积的 20%），将磁珠反复颠倒，充分混匀，使用移液器取适量的磁珠悬浮液，置于离心管中，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。

2）磁珠平衡：将离心管从磁分离器上取下来，加入与悬浮液等体积的平衡液，使用枪头反复吹打 5 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液，重复洗涤 2 次。

2.4 标签蛋白纯化

1）将 GST 融合蛋白裂解液加入到处理好的磁珠中，反复颠倒混匀。将离心管置于混合仪上，室温孵育 30 min 以上（具体时间根据结合效果调整）。

2）磁珠洗杂：将离心管置于磁分离器，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器移出上清液，保留，以备取样检测。向离心管中加入 5 倍悬浮液体积的洗杂液，使用枪头反复吹打 5 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。至少重复上述步骤 2 次。

3）洗脱目标蛋白：在上述离心管中加入 3-5 倍磁珠体积的洗脱液，用移液器吹打 5 次， 然后在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管，5-10 min 后，置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸取上清液，收集洗脱组分，即为目标蛋白。重复操作两次，分别收集洗脱组分，留待检测。

4）磁珠保存：使用后的磁珠用 1 ml 洗脱液重悬磁珠，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。该操作重复两次。再加入 1 ml 平衡液，悬浮磁珠，然后置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸弃上清液。再加入 4 倍磁珠体积的 20%乙醇，置于 2-8℃保存。

2.5 Pull-Down 操作流程

2.5.1 缓冲液的准备

平衡/洗杂液：PBS，pH 7.4 (140 mM NaCl，2.7 mM KCl，10 mM Na_2HPO_4，1.8 mM KH_2PO_4，pH 7.4)

洗脱液：50 mM Tris-HCl，10 mM 还原型谷胱甘肽，pH 8.0

2.5.2 Pull-Down 操作

1）磁珠准备

根据产品性能指标准备适量的 **Glutathione Magarose Beads**（磁珠体积为总体积的 20%），将磁珠反复颠倒，充分混匀，使用移液器取适量的磁珠悬浮液，置于离心管中，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液。

2）磁珠平衡

再将离心管磁分离器上取下来，加入与悬浮液等体积的平衡液，使用枪头反复吹打 5-10 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃清液，重复洗涤 2 次。

3）磁珠结合诱饵蛋白

将含有 GST 标签的诱饵蛋白样品加入到处理好的磁珠中，颠倒混匀。将离心管置于混合仪上，室温孵育 30 min 以上（具体时间根据结合效果调整）。

4）磁珠洗杂

将离心管置于磁分离器，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器移出上清液，保留，以备取样检测。向离心管中加入 5 倍悬浮液体积的洗杂液，使用枪头反复吹打 5-10 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。重复上述步骤 2 次。即得到诱饵蛋白-磁珠复合物。

5）目标蛋白与诱饵蛋白-磁珠复合物的结合

将含有目标蛋白的样品加入到处理好的靶蛋白-磁珠复合物中，颠倒混匀。将离心管置于混合仪上，室温孵育 30 min 以上（具体时间根据结合效果调整）。

6）磁珠洗杂

将离心管置于磁分离器，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器移出上清液，保留，以备取样检测。向离心管中加入 5 倍悬浮液体积的洗杂液，使用枪头反复吹打 5-10 次，将离心管置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。重复上述步骤 2 次。目标蛋白通过与靶蛋白的结合，从混合体系中被捕获。

7）目的蛋白的洗脱

在上述离心管中加入 3-5 倍磁珠体积的洗脱液，用移液器吹打 5 次， 然后在室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管，5-10 min 后，置于磁分离器上，大约 1 min，待溶液变澄清后，吸取上清液，收集洗脱组分，即得到靶蛋白和目标蛋白复合物。再重复操作两次，分别收集洗脱组分，留待检测。

3. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Glutathione Magarose Beads	SM002001	1 ml
	SM002005	5 ml
	SM002025	25 ml
	SM002100	100 ml
	SM00201L	1 L
Glutathione Beads	SA008005	5 ml
	SA008025	25 ml
	SA008100	100 ml
	SA008500	500 ml
	SA00801L	1 L
	SA00810L	10 L