



# 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  $\mu\text{m}$  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。

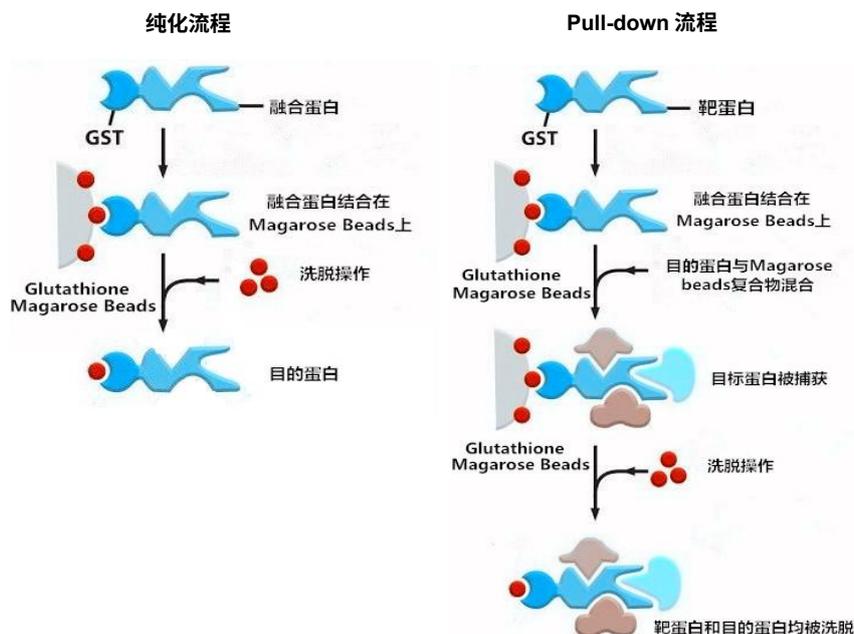
**Glutathione Magarose Beads** 以一步纯化各种表达系统表达的谷胱甘肽-S-转移酶、谷胱甘肽依赖性蛋白和谷胱甘肽转移酶的重组衍生物。同时,利用重组技术将诱饵蛋白与 GST (Glutathione S transferase) 标签融合,重组融合蛋白通过亲和作用与 **Glutathione Magarose Beads** 结合,当目标蛋白与固相载体混合时,就可被诱饵蛋白吸附,在磁力下,目标蛋白就从表达体系中分离出来,使用 **Glutathione Magarose Beads** 进行 GST Pull-down 实验,操作简单、快捷,是传统方法无法比拟的。

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	5-10 mg GST 融合蛋白/ml 磁珠
粒径	30-100 $\mu\text{m}$
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1 $\times$ PBS
磁珠体积	磁珠体积占悬浮液体积的 20%
储存温度	2-8 $^{\circ}\text{C}$

## 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。





## 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<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 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<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 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

