中科森辉微球技术(苏州)有限公司
苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 #713，邮编: 215123
电话: 0512-8686 7755；传真：0512-86867758
www.senhuimicrosphere.com

谷胱甘肽亲和层析介质（GST）产品说明书

中科森辉微球技术（苏州）有限公司

中科森辉微球技术(苏州)有限公司
苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 #713, 邮编: 215123
电话: 0512-8686 7755；传真：0512-86867758
www.senhuimicrosphere.com

谷胱甘肽亲和层析介质（GST）产品说明书

1. 产品简介

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 QZT 4FF 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（≥20 mg GST 融合蛋白/ml 介质）、特异性强、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。

2. 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，分布 45-165μm
配基密度	3.0-6.0 mg GSH/ml wet gel
动态载量	≥20 mg GST 融合蛋白/ml
最高流速*	≥1000 cm/h
推荐流速	150 cm/h
最高耐压*	≥0.10MPa (1.0bar)
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）

*：层析柱 20 cm × 1.0 cm I.D，填料高度 10cm，常温，溶液为 H_2O 的条件下测，耐压为扣除系统压力后的净压力。

3. 应用

GST QZT 4FF 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 20× 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（1g 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 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，需要对介质进行在位清洗（100 cm/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、使用和保存柱子的时候，要避免柱子流干或密封不严，防止气泡进入。

具体的应用实例如下：

蛋白样品：GST 融合蛋白（菌体破碎（按照 1 g 菌体对应 10 ml Buffer A 配置菌体溶液，冰水浴中超声破碎（30 min，超声 3S/停 3S))、离心（10000 g，4℃，15 min)，分子量约为 42 kDa)；

层析介质：GST QZT 4FF 介质（2.55 cm × 1.0 cm I.D., CV=2.0 ml)；

对照介质：(2.55 cm × 1.0 cm I.D.，CV=2.0 ml， 国际知名先品牌)；

Buffer A：50 mM Tris-HCl+0.15M NaCl， pH 8.0；

Buffer B：50 mM Tris-HCl+10 mM GSH (GSH 易氧化，现配现用)；

上样量：10 ml；

流速：0.5 ml/min。

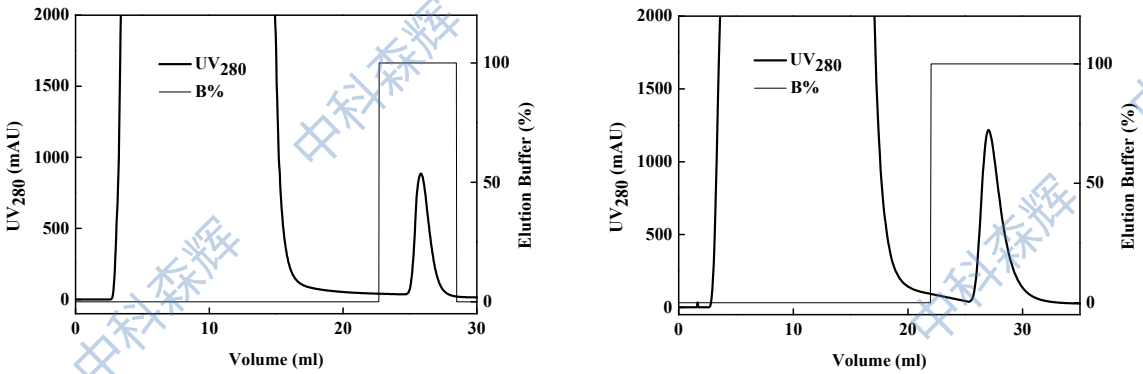
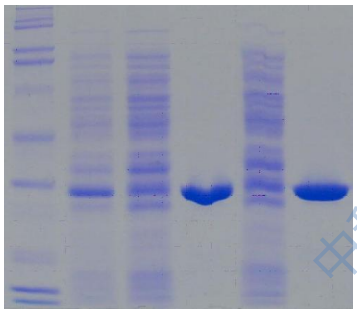


图 1 GST 层析谱图（A：对照介质；B：森辉介质）



1：细胞破碎液
2： 森辉介质穿透峰 P0
3： 森辉介质洗脱峰 P1
4： 对照介质穿透峰 P0
5： 对照介质洗脱峰 P1

M 1 2 3 4 5

图 2 SDS-PAGE 电泳图

4 特色服务

（1）提供介质筛选及工艺开发的咨询。
（2）接受客户委托定制各种分离介质、开发分离工艺。
（3）按客户要求提供各种规格的预装柱。
（4）为客户提供专业的售前和售后服务。

有关当地办事处的联系信息，请联系销售公司
销售/服务公司：中科森辉微球技术（苏州）有限公司
售后服务电话：0512-86867755-8003 传真： 0512-86867758
Email：senhui@senhuimicrosphere.com
网址：www.senhuims.com
地址：苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 713 室