



Glutathione Agarose Beads 4FF

货号: QS01012

版本: 20260516

生产企业: 江苏千株松生物科技有限公司

1. 产品简介

千株松生物的 Glutathione Agarose Beads 4FF (QS01012) 是专门用于分离纯化 GST 标签蛋白、谷胱甘肽 S - 转移酶 (GST) 或谷胱甘肽依赖性蛋白的亲和层析介质。

本产品以高度交联的 4% 琼脂糖凝胶为基质, 通过 12 个原子的间隔臂共价结合还原型谷胱甘肽 (GSH) 配基。这种结构设计使介质具有优异的物理化学稳定性, 能够耐受较高的操作压力和流速, 特别适合从实验室小规模到工业大规模的蛋白纯化应用。

产品特点

- **一步纯化:** 特异性强, 通常一步纯化即可获得纯度 > 90% 的目标蛋白
- **高载量:** 每毫升介质可结合 > 10mg GST 标签蛋白 (40kDa)
- **高流速:** 最大流速可达 250cm/h, 显著缩短纯化时间
- **易于放大:** 线性放大性能优异, 从实验室到生产规模无需重新优化工艺
- **温和洗脱:** 使用还原型谷胱甘肽进行竞争性洗脱, 避免蛋白变性, 完整保留蛋白的生物学活性
- **长使用寿命:** 良好的化学稳定性, 可多次再生使用

应用范围

- 原核表达系统 (大肠杆菌) 中 GST 标签融合蛋白的纯化
- 真核表达系统 (酵母、昆虫细胞、哺乳动物细胞) 中 GST 标签融合蛋白的纯化
- 天然谷胱甘肽 S - 转移酶的分离纯化
- 谷胱甘肽依赖性蛋白的分离纯化
- 蛋白 - 蛋白相互作用研究 (Pull-down 实验)
- 蛋白 - DNA 相互作用研究

2. 技术参数

参数	数值
基质	高度交联 4% 琼脂糖凝胶
配体	通过 12 原子间隔臂偶联的还原型谷胱甘肽
粒径范围	45-165 μ m
结合载量	>10mg GST 标签蛋白 (40kDa)/ml 介质
pH 稳定性 (工作)	4-10
pH 稳定性 (CIP)	3-12



参数	数值
最大操作压力	≤0.3MPa(3bar)
推荐流速	100-250cm/h
最大流速	≥250cm/h
化学稳定性	稳定于所有常用水溶液，包括：1M 醋酸盐 (pH4.0)、0.1M NaOH、70% 乙醇、8M 尿素、6M 盐酸胍、2% Triton X-100、2% Tween 20
贮存溶液	20% 乙醇水溶液
贮存温度	4-30°C
外观	白色浆状物，静置后分层

3. 纯化原理

谷胱甘肽 S - 转移酶 (GST) 是一种来源于日本血吸虫的酶，由 211 个氨基酸组成，分子量约为 26kDa。GST 的活性中心能与还原型谷胱甘肽 (γ - 谷氨酰 - 半胱氨酰 - 甘氨酸) 形成高度特异性的非共价复合物，解离常数 (Kd) 低至 10^{-6} M。

当靶蛋白与 GST 标签融合表达时，融合蛋白会保留 GST 的酶活性和底物结合特性。将含有融合蛋白的样品通过固定有还原型谷胱甘肽的层析柱时，GST 标签会与介质上的谷胱甘肽配基特异性结合，而其他杂蛋白则随流穿液流出。

用平衡缓冲液充分洗涤去除非特异性结合的杂蛋白后，加入含有过量游离还原型谷胱甘肽的洗脱缓冲液。游离的谷胱甘肽会竞争性地与 GST 标签结合，从而将融合蛋白从介质上洗脱下来。

如果需要去除 GST 标签，可以在融合蛋白的 GST 标签与靶蛋白之间设计特异性蛋白酶识别位点 (如凝血酶、肠激酶、PreScission 蛋白酶等)，纯化后用相应的蛋白酶进行酶切，再通过二次层析去除 GST 标签和蛋白酶。

4. 标准操作流程

4.1 溶液制备

- **平衡液 (PBS, pH7.3):** 0.14M NaCl、0.0027M KCl、0.01M Na_2HPO_4 、0.0018M KH_2PO_4
- **洗脱液:** 0.05M Tris-HCl、0.01M 还原型谷胱甘肽，pH8.0
- **再生缓冲液 1:** 0.1M Tris-HCl、0.5M NaCl、0.1% SDS，pH8.5
- **再生缓冲液 2:** 0.1M 醋酸钠、0.5M NaCl、0.1% SDS，pH4.5

4.2 样品制备

1. 样品所在溶液的 pH 和电导应与平衡液保持一致，可通过透析、超滤或 G25 脱盐柱进行缓冲液置换
2. 样品上样前必须进行澄清处理：
 - 平均粒径 < 45 μm 的样品：用 0.22 μm 滤膜过滤
 - 45 μm < 平均粒径 < 165 μm 的样品：用 0.45 μm 滤膜过滤
 - 平均粒径 > 165 μm 的样品：用 0.8 μm 滤膜过滤



3. 对于细胞裂解液样品，建议在 4°C 下 12000×g 离心 30 分钟，取上清液进行过滤
4. 注意：本产品仅适用于可溶性蛋白的纯化，不能用于纯化溶解于高浓度变性剂中的包涵体蛋白

4.3 中压层析系统操作

1. 采用液滴对液滴的方式将柱子连接到层析系统上，避免引入气泡
2. 用纯化水冲洗 5 个柱体积 (CV)，去除保存液中的乙醇
3. 用平衡液冲洗 10 个柱体积，直至紫外吸收值和电导值稳定
4. 将样品以 1ml/min (约 30cm/h) 的流速上样，收集流穿液用于后续分析
5. 用平衡液冲洗 10-15 个柱体积，直至紫外吸收值回到基线
6. 用洗脱液洗脱 10 个柱体积，分步收集洗脱峰
7. 纯化完成后，按照 "填料再生" 或 "在位清洗" 的步骤处理介质

4.4 重力柱操作

1. 轻轻颠倒瓶子使介质完全悬浮，用移液管吸取适量介质浆液到重力流柱中
2. 静置待介质自然沉降，打开柱下端出口，让保存液自然流出
3. 加入 10 倍柱体积的平衡液，让液体自然流出，重复平衡 2-3 次
4. 关闭柱下端出口，加入处理好的样品，轻轻混匀
5. 室温下孵育 30 分钟，期间每隔 5 分钟轻轻颠倒混匀一次
6. 打开柱下端出口，收集流穿液
7. 加入 10 倍柱体积的平衡液洗涤，收集洗涤液
8. 加入 5 倍柱体积的洗脱液，室温下孵育 5-10 分钟
9. 打开柱下端出口，收集洗脱液，即为纯化的 GST 标签蛋白

4.5 批量纯化操作

1. 取适量介质浆液到离心管中，500×g 离心 5 分钟，弃去上清液
2. 加入 10 倍柱体积的平衡液，轻轻混匀，500×g 离心 5 分钟，弃去上清液，重复 2 次
3. 加入处理好的样品，轻轻混匀
4. 室温下在摇床上缓慢孵育 30 分钟
5. 500×g 离心 5 分钟，小心弃去上清液 (流穿液)
6. 加入 10 倍柱体积的平衡液，轻轻混匀，500×g 离心 5 分钟，弃去上清液，重复洗涤 3 次
7. 加入 5 倍柱体积的洗脱液，轻轻混匀
8. 室温下在摇床上缓慢孵育 5-10 分钟
9. 500×g 离心 5 分钟，小心收集上清液，即为纯化的 GST 标签蛋白

5. 在位清洗 (CIP)

当介质使用多次后，或出现流速下降、结合能力降低、非特异性结合增加等情况时，需要进行在位清洗以去除强结合的杂质。

标准 CIP 流程

1. 用 2 个柱体积的 1M NaOH 溶液以 100cm/h 的流速冲洗，接触时间不少于 30 分钟



2. 用 5 个柱体积的纯化水冲洗
3. 用 2 个柱体积的 4M 尿素或 3M 盐酸胍溶液冲洗
4. 用 5 个柱体积的纯化水冲洗
5. 用 2 个柱体积的 70% 乙醇或 30% 异丙醇溶液冲洗
6. 用 5 个柱体积的纯化水冲洗
7. 用 10 个柱体积的平衡液重新平衡柱子

特殊污染物清洗

- **沉淀或变性蛋白**：用 2 个柱体积的 6M 盐酸胍清洗，然后用 5 个柱体积的平衡液清洗
- **疏水缔合物**：用 2 个柱体积的 70% 乙醇清洗，然后用 5 个柱体积的平衡液清洗
- **脂类物质**：用 2 个柱体积的 30% 异丙醇清洗，然后用 5 个柱体积的平衡液清洗

6. 填料再生

每次使用后都应进行填料再生，以保持介质的性能和使用寿命。

常规再生流程

1. 用 5 个柱体积的再生缓冲液 1 (0.1M Tris-HCl、0.5M NaCl、0.1% SDS, pH8.5) 冲洗
2. 用 5 个柱体积的纯化水冲洗
3. 用 5 个柱体积的再生缓冲液 2 (0.1M 醋酸钠、0.5M NaCl、0.1% SDS, pH4.5) 冲洗
4. 用 5 个柱体积的纯化水冲洗
5. 用 10 个柱体积的平衡液重新平衡柱子
6. 如果不立即使用，用 5 个柱体积的 20% 乙醇冲洗，然后保存在 20% 乙醇中

注意事项

- 正确再生的介质可重复使用至少 5 次而不影响蛋白的产量和纯度
- 纯化不同的融合蛋白时，必须进行完整的再生流程以防止样品交叉污染
- 当介质的结合能力下降到初始值的 70% 以下时，建议更换新的介质

7. 常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
目标蛋白不结合或结合量低	样品 pH 或电导与平衡液不一致	用透析、超滤或 G25 脱盐柱将样品缓冲液置换为平衡液
	样品中含有高浓度的还原剂 (DTT、 β -ME)	降低样品中还原剂的浓度或更换为 TCEP
	上样流速过快	降低上样流速至 < 50cm/h
	介质已失活或再生不充分	进行完整的在位清洗或更换新介质
	目标蛋白表达量低或为不溶性蛋白	优化表达条件，检查蛋白是否存在于上清液中



问题	可能原因	解决方案
洗脱液中没有目标蛋白	洗脱液中还原型谷胱甘肽浓度过低	提高洗脱液中 GSH 浓度至 10-20mM
	洗脱液 pH 不正确	确保洗脱液 pH 为 8.0
	目标蛋白与介质结合过强	延长洗脱孵育时间或提高洗脱温度至 37°C
	目标蛋白在洗脱过程中沉淀	在洗脱液中加入适量的甘油 (5-10%) 或非离子去污剂 (0.1% Triton X-100)
纯化产物纯度低	洗涤不充分	增加洗涤液的体积或延长洗涤时间
	非特异性结合过多	在平衡液和洗涤液中加入适量的 NaCl (0.3-0.5M) 或非离子去污剂 (0.1% Triton X-100)
	样品上样量过大	减少上样量或增加介质体积
	宿主细胞内源性 GST 的污染	使用不含内源性 GST 的表达菌株或在纯化后进行二次层析
洗脱峰拖尾严重	洗脱流速过快	降低洗脱流速
	洗脱液中 GSH 浓度不足	提高洗脱液中 GSH 浓度
	介质装填不均匀	重新装填柱子
柱子流速过慢	样品未充分澄清	重新过滤样品或离心去除沉淀
	介质被污染或堵塞	进行在位清洗去除杂质
	操作压力过高	降低流速至推荐范围内

8. 试剂兼容性表

试型	兼容浓度	不兼容
盐类	2M NaCl、4M MgCl ₂ 、5mM CaCl ₂ 、100mM Na ₂ SO ₄	-
去污剂	2% Triton X-100、2% Tween 20	-
变性剂	8M 尿素、6M 盐酸胍	-
还原剂	1mM β- 巯基乙醇、1mM 还原型谷胱甘肽	DTT、TCEP-HCl (高浓度会导致配基脱落)
其他	50% 甘油、20% 乙醇	EDTA (高浓度会影响结合)

9. 安全注意事项

- 本产品仅用于科研目的，不得用于临床诊断或治疗
- 操作时应穿戴适当的个人防护装备 (实验服、手套、护目镜)
- 避免接触皮肤、眼睛和黏膜，如不慎接触，立即用大量清水冲洗
- 20% 乙醇保存液具有易燃性，应远离火源
- 实验废弃物应按照实验室规定进行处理
- 还原型谷胱甘肽对光敏感，洗脱液应现配现用并避光保存



10. 储存与运输

- **储存条件:** 4-30℃密封保存于 20% 乙醇水溶液中
- **运输条件:** 常温运输
- **保质期:** 在规定的储存条件下, 保质期为 2 年
- **注意事项:**
 - 避免冷冻, 冷冻会导致介质结构破坏
 - 避免阳光直射
 - 使用后的介质应保存在 20% 乙醇中, 每 3 个月更换一次新鲜的保存液
 - 长期不用的柱子应密封保存, 防止乙醇挥发和微生物生长

11. 订购信息

产品名称	货号	规格
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012	10ml
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012-50	50ml
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012-100	100ml
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012-500	500ml
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012-1000	1000ml

相关产品

产品名称	货号
Dextrin Agarose Beads 6FF	QS01013
Streptactin Agarose Beads 6FF	QS01015
Con A Agarose Beads 4FF	QS01044
Boronic Acid Agarose Beads 4FF	QS01060
GST-tag 单克隆抗体	QS04091
细菌细胞裂解缓冲液	QS05155
蛋白酶抑制剂 Cocktail (100×)	QS05057

技术支持

如果您在使用过程中遇到任何问题, 请联系我们的技术支持团队:

- 电话: 17302508337 (微信同号)
- 邮箱: support@qianzhusong.com
- 官网: www.qianzhusong.com
- 微信公众号: 千株松生物