

## BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠

产品编号	产品名称	包装
P2258-2ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	2ml
P2258-10ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	10ml
P2258-50ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	50ml

### 产品简介:

- 碧云天的BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠，英文名为BeyoMag™ Magnetic Agarose Beads for GST-Tag Protein Purification，也称BeyoMag™ GSH Magnetic Agarose Beads，即GST标签蛋白纯化磁珠、GST纯化琼脂糖磁珠、GST磁珠、GSH琼脂糖磁珠(Magarose)、GST琼脂糖磁珠、谷胱甘肽琼脂糖磁珠，由高质量的还原型L-谷胱甘肽(L-Glutathione reduced, GSH)共价偶联至琼脂糖磁珠制备而成，可特异地与动植物或者微生物裂解液、血清、腹水等样品中含有GST标签的蛋白结合，从而用于带有GST标签的蛋白或蛋白复合物的纯化、免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)或免疫共沉淀(Co-IP)。本产品可以耐受6M盐酸胍或8M尿素。
- GST标签(GST-tag)、His标签(His-tag)、Flag标签(Flag-tag)、Myc标签(Myc-tag)和HA标签(HA-tag)等是最常见的一些标签，通过与这些标签的融合表达可以非常方便地检测目的蛋白及与目的蛋白相互结合的蛋白，也可以非常方便地用于目的蛋白的纯化。
- GST标签，即谷胱甘肽S-转移酶(Glutathione S-transferase)标签，GST本身是一个在解毒过程中起到重要作用的转移酶，分子量约为26kDa，可融合在蛋白的N端或者C端，在大肠杆菌中常融合于N端。GST标签具有以下优点：能增加外源蛋白的可溶性和表达量；可在不同的宿主如大肠杆菌和酵母中表达，适用范围广；可很好保留了蛋白的抗原性和生物活性，有助于保护重组蛋白免受胞外蛋白酶的降解并提高其稳定性；如果在GST标签和目的蛋白之间含有位点特异性的蛋白酶识别位点，如PreScission Protease、TEV Protease或Thrombin等，则可用相应的蛋白酶切除GST标签，方便去除；高特异性，纯化方便且温和；GST标签作为标签蛋白，后续通过GST抗体(AF2888)或Anti-GST磁珠(P2138)、BeyoGold™ GST-tag Purification Resin (P2250)、GST标签蛋白纯化试剂盒(P2262)等即可对目的基因的表达、定位及功能进行检测或对目的蛋白进行纯化、免疫沉淀或免疫共沉淀等。基于以上优点，GST标签已被广泛应用于蛋白表达、纯化、鉴定、相互作用和功能等多方面的研究。一般使用GST纯化柱对GST标签蛋白进行纯化[1,2]，但对于带有GST标签的融合蛋白或蛋白复合物的少量纯化或免疫沉淀等应用，GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠更简单、便捷。
- BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠，简称GST纯化琼脂糖磁珠，可特异地结合GST标签融合蛋白，并可以借助磁力架等磁分离设备非常便捷地应用于带有GST标签的融合蛋白或其蛋白复合物的纯化或免疫沉淀等实验。本产品的工作原理与操作流程请参考图1。

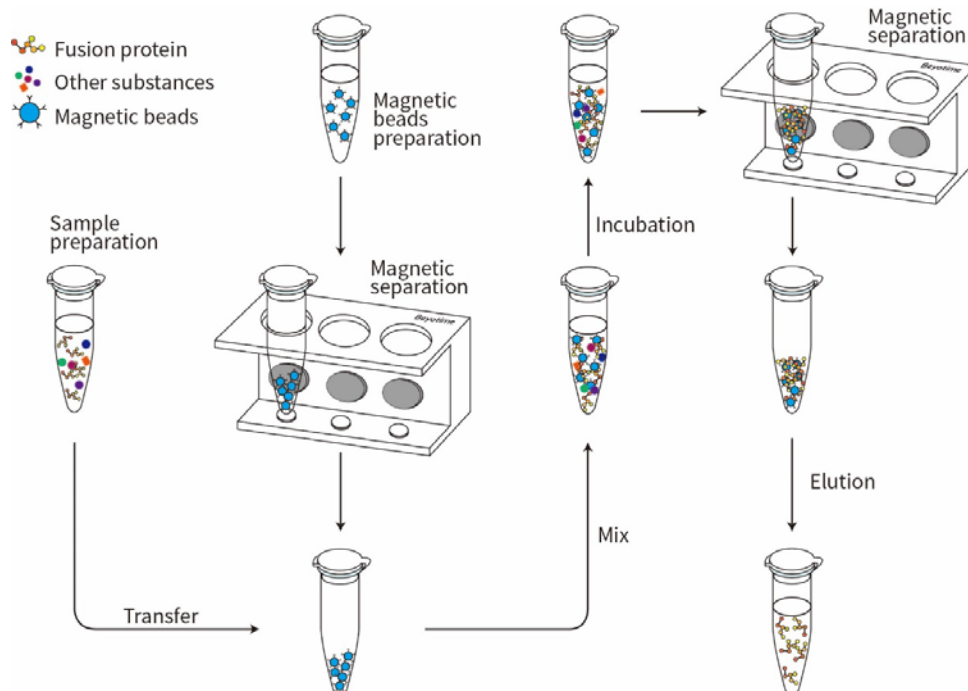


图1. 碧云天BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠(P2258)工作原理与操作流程。

- **本产品稳定性高、特异性强、靶蛋白结合量高。**与国内外大多数的同类产品相比，本产品还原型L-谷胱甘肽(GSH)配基密度高，对带有GST标签蛋白的结合具有很强的特异性。本产品每毫升悬浊液含约25%琼脂糖磁珠沉淀，含有不少于30-50 $\mu\text{mol/ml}$ 的GSH，通常每毫升磁珠(磁珠沉淀的体积)可结合10-20mg GST标签融合蛋白，具体的最大结合量和标签蛋白的分子量大小等相关。
- **本产品可结合多种形式的GST标签蛋白。**本产品可特异性地结合氨基端(N端)有甲硫氨酸的N端GST融合蛋白(Met-GST-Protein)、N端GST融合蛋白(GST-Protein)、C端GST融合蛋白(Protein-GST)。
- **本产品结合目的蛋白速度快。**本产品使用了GST纯化琼脂糖磁珠，粒径在100 $\mu\text{m}$ 左右。通常30分钟内即可完成GST蛋白吸附的过程，60分钟内完成目的蛋白纯化或免疫沉淀操作。缩短操作时间可以有效避免在长时间操作过程中目的蛋白的降解或变性，充分保证目的蛋白的活性。
- **本产品可高效洗脱GST标签蛋白。**本产品根据目的蛋白的结构、生物学功能及后续应用的要求等，使用还原型L-谷胱甘肽(GSH)进行多次洗脱。洗脱时间短，洗脱效率高。本产品及同类产品Competitor G用于GST标签融合蛋白的纯化效果参考图2。

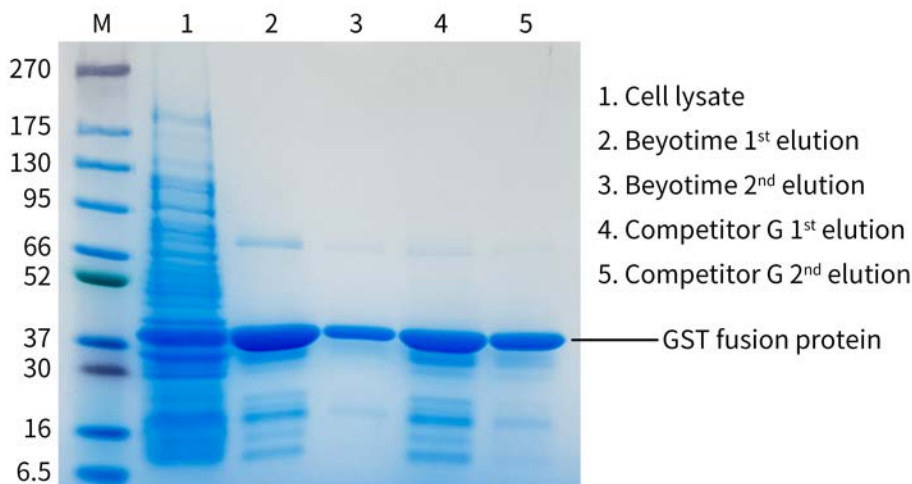


图2. 碧云天BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠(P2258)用于GST标签融合蛋白的纯化效果图。样品1为细菌裂解液，即大肠杆菌中GST标签融合蛋白全细菌裂解液；样品2、3分别为GST纯化琼脂糖磁珠洗脱第一次、第二次的样品；样品4、5分别为G公司同类产品(Competitor G)洗脱第一次、第二次的样品。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，本图仅供参考。

- **本产品使用便捷。**本产品储存在特殊保护液中，不含甘油，可以通过磁性吸附实现快速高效的分离，无需离心操作。
- 本产品的主要指标如下表：

Characteristics	Description
Product content	25% slurry in specific protective buffer
Beads size	30~150 $\mu\text{m}$
Magnetization	Superparamagnetic
Coupled Ligand	GSH
Ligand density	30-50 $\mu\text{mol/ml}$ beads
Binding capacity	10-20mg GST-tagged fusion protein per ml beads (precipitation)
Specificity	Met-GST-tag-Protein, GST-tag-Protein, Protein-GST-tag
Application	Protein purification, IP, Co-IP

- 本产品每毫升悬浊液中共含约0.25ml琼脂糖磁珠沉淀。本产品标注的体积为悬浊液总体积。每毫升悬浊液可以用于纯化2-3mg分子量约为60kDa的GST标签蛋白。GST标签蛋白分子量的大小会影响本产品可以纯化的目的蛋白的毫克数。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P2258-2ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	2ml
P2258-10ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	10ml
P2258-50ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	50ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

-20°C保存，两年有效。4°C保存，一年有效。

#### 注意事项：

- 本GST纯化琼脂糖磁珠经测试，冻融3次不影响效价，但仍建议适当分装减少冻融次数。频繁使用建议4°C保存。
- 本GST纯化琼脂糖磁珠可以耐受6M盐酸胍或8M尿素，但GST标签蛋白的纯化应始终保持在非变性条件下，如果融合蛋白以包涵体形式表达，在使用8M尿素或6M盐酸胍溶解包涵体后，需通过透析去除尿素或盐酸胍并使蛋白复性后才能使用本产品进行纯化。

- 本产品需维持pH为6-8, 避免高速离心、干燥; 请勿长时间将磁珠置于磁场中, 否则可能会引起磁珠聚团。
- 本产品使用前要适当充分重悬, 即颠倒若干次使磁珠混合均匀, 混匀操作须轻柔, 不宜剧烈涡旋震荡。
- 在纯化或免疫沉淀时, 建议设置阳性和阴性对照组。
- Elution Buffer中含有的GSH易被氧化, 建议现配现用。
- 样品及缓冲液中加入1-10mM的DTT, 有助于促进部分GST融合蛋白与GST纯化琼脂糖磁珠的结合。
- 蛋白样品收集后宜尽快完成纯化工作, 并应始终放置在4°C或冰浴, 以减缓蛋白降解或变性。为有效抑制蛋白降解, 可以在蛋白样品中添加适量的蛋白酶抑制剂混合物, 例如碧云天的蛋白酶抑制剂混合物(通用型) (P1005/P1006)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X) (P1048/P1049)、蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X) (P1010/P1011)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 50X) (P1050/P1051)等。
- 如果使用真空泵等仪器吸取上清液, 须注意真空泵的吸液强度, 以免吸力过大而吸收到聚集的磁珠。
- 0.1%的非离子型去垢剂(如Triton X-100、Tween-20或NP-40)可有效防止磁珠聚集, 并且不会影响磁珠的抗体结合效率。
- 高浓度的DTT、巯基乙醇、盐酸胍等对本产品与标签蛋白的结合可能有一定影响, 但Western及IP细胞裂解液(P0013)、RIPA裂解液(P0013B/C/D)或NP-40裂解液(P0013F)等都完全适用。碧云天生产的不同裂解液的主要特点和差异, 以及如何选择裂解液可参考我们的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/lysis-buffer.htm>。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明:

本步骤以最常见的大肠杆菌中表达纯化GST标签重组蛋白为例进行详细说明。通常大肠杆菌500ml菌液得到2-4g湿重的菌体, 通过实验估算目标蛋白产量为10-20mg, 需要4ml磁珠悬液用于目标蛋白的纯化, 可以根据实际情况进行放大或缩小。

### 1. 缓冲液的准备。

Buffer	Components
Binding/Wash Buffer	1X PBS, pH7.4
Elution Buffer	50mM Tris-HCl, 10mM GSH, pH8.0

注: 所用水和缓冲液在使用之前建议用0.22µm或0.45µm孔径滤膜过滤, 以减少杂质, 提高GST标签蛋白纯化效率。

### 2. 样品的制备。

- 收集大肠杆菌菌液至离心管中, 4°C 4,000×g离心20分钟或4°C 15,000×g离心1分钟, 弃上清, 收集沉淀。随后即可进入细菌裂解步骤, 也可以在-20°C或-80°C冻存备用。冷冻保存的菌体使用前需置于冰上解冻15分钟。
- 用Binding/Wash Buffer重悬沉淀, 如果需要, 可加入适量的蛋白酶抑制剂混合物, 如碧云天的蛋白酶抑制剂混合物(细菌抽提用, 100X) (P1025/P1026)或蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 100X) (P1005/P1006)。
 

注: 根据GST标签重组蛋白表达的丰度, 菌液和Binding/Wash Buffer的体积比可以在25:1-5:1范围内适当调整。表达丰度非常高时, 每毫升菌液的沉淀(约10mg)可以加入200µl Binding/Wash Buffer; 表达丰度非常低时, 每毫升菌液的沉淀(约3mg)可以加入40µl Binding/Wash Buffer。
- 冰上超声裂解细菌。超声功率200-300W, 每次超声处理10秒, 每次间隔10秒, 共超声处理6次, 即为粗蛋白样品。具体超声处理的方式须根据特定型号的超声仪器自行摸索和优化。
 

注: 如果样品过于粘稠, 可根据需要在粗样品中加入适量核酸酶, 冰浴30分钟, 以降解核酸。另外, 也可以根据实际需要可对蛋白样品进行离心操作。推荐使用BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%) (D7121)。

### 3. BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠(GST纯化琼脂糖磁珠)的准备。

- 用移液器轻轻吹打重悬GST纯化琼脂糖磁珠, 按照每2-3mg目标蛋白(分子量约为60kDa)需要使用1ml磁珠悬浊液的用量, 取适量GST纯化琼脂糖磁珠至一洁净离心管中(FTUB015), 磁性分离去除上清; 加入与原磁珠悬浊液等体积或适当更大体积的Binding/Wash Buffer洗涤磁珠。
- 用移液器轻轻吹打重悬GST纯化琼脂糖磁珠。置于磁力架(FMS012/FMS024)上分离10秒, 去除上清。重复上述步骤两次。
 

注: 为了减少磁珠的损耗, 待溶液澄清后, 盖紧离心管盖子, 保持离心管仍在磁力架上, 按住离心管上下翻转数次, 使澄清的溶液洗涤离心管盖子上残留的磁珠, 静置后使溶液变澄清。以下同。

### 4. 目标蛋白与磁珠结合。

- 加入磁珠与孵育。**按照每2-3mg目标蛋白(分子量约为60kDa)样品(通常约10ml, 具体蛋白样品用量与目的蛋白表达水平有关)加入1ml磁珠悬浊液的比例加入GST纯化琼脂糖磁珠, 置于侧摆摇床或旋转混合仪上, 室温孵育30-60分钟。
 

注: 如果需要, 可以在2-8°C旋转混合2小时, 以防止目标蛋白降解。推荐使用BeyoShaker™数字式翘板摇床(E6673)。
- 磁分离。**孵育完毕后, 置于磁力架上分离10秒, 去除上清。注: 可保留部分上清液, 用于检测纯化的效果。
- 洗涤。**加入2ml的Binding/Wash Buffer, 用移液器轻轻吹打重悬GST纯化琼脂糖磁珠。置于磁力架上分离10秒, 去除上清。重复洗涤三次。

### 5. 洗脱。

- 根据目标蛋白的浓度及后续实验要求, 可以加入0.2-1ml Elution Buffer, 轻轻翻转离心管数次, 使磁珠悬浮孵育5分钟, 磁性分离, 收集洗脱液到新的离心管, 即为纯化的GST标签蛋白。
- 如果需要, 重复上述步骤一次, 收集样品到新的离心管中, 还可以得到一些GST标签蛋白。

### 6. 磁珠的清洗和再生。

- 向离心管加入2ml Elution Buffer, 上下翻转离心管数次, 使磁珠重悬, 涡旋10秒, 磁性分离, 去除上清。重复3次。

- b. 向离心管中加入2ml 20%乙醇，上下翻转离心管数次，使磁珠重悬，涡旋10秒，磁性分离，去除上清。重复3次。  
 c. 磁珠保存在20%乙醇中，使总体积等于初始悬浮液体积，置于2-30°C (长期保存，置于2-8°C)，可用于下一次同种蛋白的纯化。

常见问题：

Problem	Possible Causes	Solution
Very few or no GST-tagged protein exists in the eluate.	Protein is not completely eluted.	1. Increase the GSH concentration to 15mM or higher in the elution buffer. 2. Increase the elution or incubation time. 3. Add Triton X-100 (0.1%) or n-Octylglucoside (2%) or NaCl (0.1-0.2M) to the Elution Buffer.
	No target protein expressed.	Make sure the protein of interest contains the GST-tag by Western blot or dot blot analyses.
	Very low protein expression level.	1. Use larger volume of cell lysate. 2. Optimize expression conditions to raise the protein expression level.
	Washes are too stringent.	Reduce the time and number of washes.
	Incubation times are inadequate.	Increase the incubation time.
	Detection system is inadequate.	If Western blot detection is used: 1. Check primary and secondary antibodies using proper controls to confirm binding and reactivity. 2. Verify that the transfer was adequate by using pre-stained protein marker or staining the membrane with Ponceau S. 3. Use fresh detection substrate or try a different detection system.
The purity of the target protein is low.	The target protein has degraded.	Add appropriate protease inhibitors such as PMSF to the cell lysate and Binding/Wash Buffer.
	Host proteins, such as chaperonins, may interact with the fusion protein	1. Add DTT (5mM) in the Binding/Wash Buffer. 2. Add Chaperonin Buffer (2mM ATP, 10mM MgSO <sub>4</sub> , 50mM Tris-HCl) to the cell lysate and incubate at 37°C for 10 minutes prior to the purification.
	Washes are insufficient.	1. Increase the number of washes. 2. Prolong duration of the washes, incubating each wash for at least 15 minutes. 3. Add more stringent wash conditions. Detergent such as 1% Triton X-100, 1% Tween-20, 0.03% SDS, or 0.1% NP-40 may be used. 4. Centrifuge at lower speed to avoid nonspecific trapping of denatured proteins.
The binding capacity of the magnetic beads has declined.	Protein or other substances have aggregated on the beads.	Wash the beads with NaOH.
	The beads have been reused too many times.	Use new beads.

参考文献：

- Einarson MB, Pugacheva EN, Orlinick JR. CSH Protoc. 2007. 2007:pdb.prot4757.
- Schäfer F, Seip N, Maertens B, Block H, Kubicek J. Methods Enzymol. 2015. 559:127-39.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2138-0.5ml	BeyoMag™ Anti-GST Magnetic Beads (Anti-GST磁珠)	0.5ml
P2138-2ml	BeyoMag™ Anti-GST Magnetic Beads (Anti-GST磁珠)	2ml
P2250	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	1ml
P2251	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	10ml
P2253	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	100ml

P2255	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	1000ml
P2258-2ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	2ml
P2258-10ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	10ml
P2258-50ml	BeyoMag™ GST标签蛋白纯化琼脂糖磁珠	50ml
P2260S	GST标签蛋白纯化试剂盒(琼脂糖磁珠法)	10ml
P2262	GST标签蛋白纯化试剂盒	10ml
FMS004	BeyoMag™磁分离架(4孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS008	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS009	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS012	BeyoMag™磁分离架(12孔)	1个/袋
FMS015	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS016	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS017	BeyoMag™磁分离架(16孔, 0.2ml/PCR管, 蓝)	1个/盒
FMS024	BeyoMag™磁分离架(24孔)	1个/袋
FMS025	BeyoMag™磁分离架(24孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS081	BeyoMag™磁分离架(96孔, PCR板, 蓝)	1个/盒
FMS082	BeyoMag™磁分离架(96孔, PCR板, 铝合金)	1个/盒
FMS085	BeyoMag™磁分离架(96孔, 平底板, 蓝)	1个/盒
FMS086	BeyoMag™磁分离架(96孔, 细胞培养板, 铝合金)	1个/盒
FMS096	BeyoMag™磁分离架(96孔)	1个/袋
FMS154	BeyoMag™磁分离架(4孔, 15ml, 蓝)	1个/盒
FMS504	BeyoMag™磁分离架(4孔, 50ml, 蓝)	1个/盒

Version 2023.07.21