

产品简介:

GST Elution buffer洗脱原理是通过还原型的GSH和bead上的谷胱甘肽竞争结合融合蛋白，从而将标签蛋白从beads上洗脱。GST Elution buffer中加入tritonX-100能够增加蛋白的溶解度，加入甘油不仅能降低目标蛋白的极性，同时能保护目标蛋白的活性。对于目标蛋白失去活性的情况可以使用GST Elution buffer (no triton)。

产品组成:

组分/规格	10mL
Elution Buffer	液体

包装规格

10 mL

保存条件

4°C下保存半年。

使用方法:

GST beads纯化步骤

1. 将细胞裂解液高速离心，上清加入准备好的beads中，在旋转仪上4°C条件下旋转孵育至少1h。
2. 瞬时离心后，保留一些上清，用SDS-PAGE电泳检测介质结合能力，留beads。
3. 每0.5 mLbeads加1 mL GST 洗涤液洗涤，瞬时离心后留beads；重复3次。
4. 每0.5 mLbeads加入0.6 mL GST Elution buffer，旋转仪于4°C条件下轻轻转动孵育1h；
5. 瞬时离心沉淀beads，保留上清液（相当于洗脱液），制样，用SDS-PAGE电泳检测洗脱得到的蛋白。

注意:

- GST融合蛋白与还原型谷胱甘肽的结合比较缓慢，为获得最大结合量，需要保证足够的作用时间。不同的GST融合蛋白结合效率差异显著。
- 不同的GST融合蛋白取得最佳纯化效果所需还原型谷胱甘肽浓度，洗脱体积和洗脱时间可能有所不同。必要是需对流穿液，洗脱液进行SDS-PAGE以及Western杂交分析，以确定最佳纯化条件。
- GST检测试剂盒可辅助优化洗脱条件，分析纯化过程的每个步骤，该试剂盒主要用生化或免疫分析检测GST-tagged蛋白。
- A280处的吸收值可用来估算GST-tagged蛋白浓度，约A280~1对应浓度为0.5mg/ml。
- GST-tagged蛋白浓度也可用标准的显色方法测定（如Lowry, BCA, 和Bradford法）。如果用Lowry法和BCA法，样品首先要脱盐，或在PBS中透析去除谷胱甘肽，因为谷胱甘肽会干扰蛋白的吸收，而Bradford法不受谷胱甘肽影响。
- 介质的再次使用，主要取决于样品的性质，必须是同一个样品，防止交叉污染。

注意事项:

1. 蛋白比较容易降解，务必保证每步在冰上进行，收集目的蛋白以后，请于4°C或-20°C保存。
2. 为了安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。