

亲和层析凝胶 GST 4FF 使用说明书

为确保产品的性能和无忧的操作，使用前请仔细阅读本手册，有任何疑问请咨询本公司售后技术支持或销售人员。

1. 产品介绍

亲和层析凝胶 GST 4FF 适用于分离纯化 GST 标签蛋白、谷胱甘肽 S-转移酶或谷胱甘肽依赖性蛋白。特点如下：

- 快速、简单（一步纯化）。
- 载量高、流速快、易于放大。
- 温和的洗脱条件可以完整的保留蛋白的生物学活性。

表1：介质性能参数

基质	高度交联 4%的琼脂糖
粒径范围	45-165 μm
平均粒径	90 μm
结合载量	15mg(GST 标签蛋白)/ml(介质)
pH 稳定性	3-12
化学稳定性	所有常用水溶液，如：1M 醋酸盐，pH 4.0、0.1M NaOH、70%乙醇、8M 尿素、6M 盐酸胍。
流速	450cm/h
操作压力	$\leq 0.3\text{MPa}$
贮存溶液	20%乙醇
贮存温度	4-30 $^{\circ}\text{C}$

1. 使用（以 HT 1ml 和 HT 5ml 为例）

a. 水洗

用 5-10CV 纯化水以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)清洗介质。

备注：此步骤用于去除介质中 20%乙醇。

b. 平衡

用 5-10CV 平衡液以 0.5ml/min(HT 1ml)或 2.0ml/min(HT 5ml)平衡介质，直至基线平稳后调零。

备注：此步骤用于平衡介质，保证介质中的溶液的组分和 pH 与样本一致。

c. 上样

上样前务必要确认样本溶液的 pH 在 6.5-8.0 范围内，再经过离心、过滤(0.45 μm)后以 0.2ml/min(1ml)或 1.0ml/min(5ml)进行上样，上样完成后用平衡液进清洗直至基线为零。

备注：蛋白的结合能力随着裂解物类型、目标蛋白质性质、流速、温度、pH 变化而变化，低流速常常能增

加样本的结合效率。

d. 洗脱

用 5-10CV 洗脱液以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)进行洗脱，并收集洗脱液。

备注：低流速常常能增加洗脱液中目标蛋白的浓度。

e. 水洗

用 5-10CV 纯化水以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)清洗介质。

备注：此步骤用于去除介质中洗脱液。

f. 保存

用 5-10CV 20%乙醇以 0.5ml/min(1ml)或 2.0ml/min(5ml)清洗介质后保存。

备注：20%乙醇可以防止微生物的生长，20%乙醇保存的介质可以在 4-30℃（4-8℃更佳）保存。

g. 溶液配制

平衡液：0.14M NaCl、0.0027M KCl、0.01M Na₂HPO₄、0.0018M KH₂PO₄，调节 pH 7.3，室温保存。

备注：平衡液配制完成后务必确保 pH 为 7.3，当样本所在溶液的 pH<6.5 或 pH>8.0 时，样本与介质作用较弱甚至是无效的。

洗脱液：0.05M Tris-HCl、0.01M GSH，调节 pH 8.0，4℃保存。

备注：洗脱液要求现配现用；也可以先配制 0.05M Tris-HCl，pH 8.0 在 4℃保存，使用前再加入 GSH 并调整 pH 为 8.0（加入 GSH 后，pH 会降低）。

2. 清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性蛋白、脂类等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量、流动性、柱效等）。

建议每使用 5 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

a. 用 2-5 倍柱体积 1.0% Triton X-100 或 70%乙醇冲洗后，立即用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。

备注：用于去除疏水结合物质。

b. 用 2-5 倍柱体积 8M 尿素或 6M 盐酸胍冲洗后，立即用 5-10 倍柱体积纯化水冲洗。

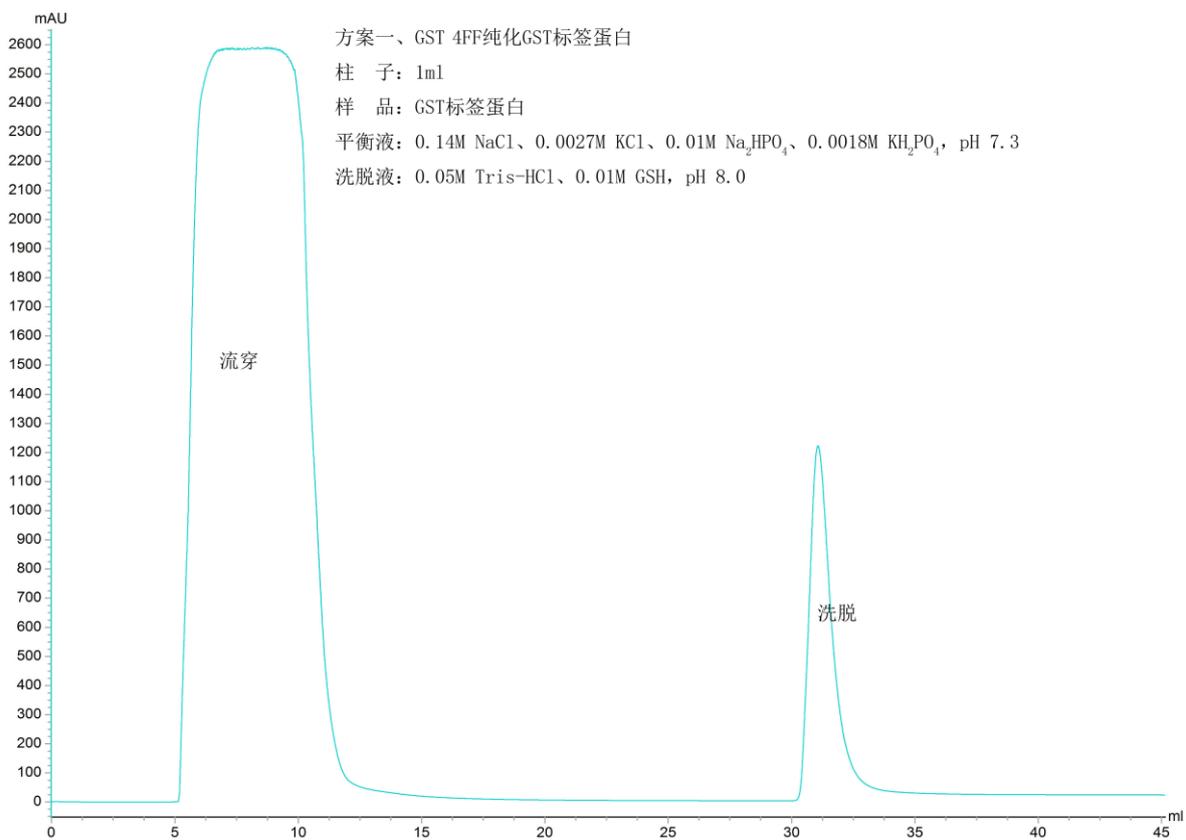
备注：用于去除聚集在介质中的沉淀或变性物质。

c. 用 5-10 倍柱体积的 20%乙醇冲洗后保存。

备注：20%乙醇可以防止微生物的生长，20%乙醇保存的介质可以在 4-30℃（4-8℃更佳）保存。

3. 应用案例

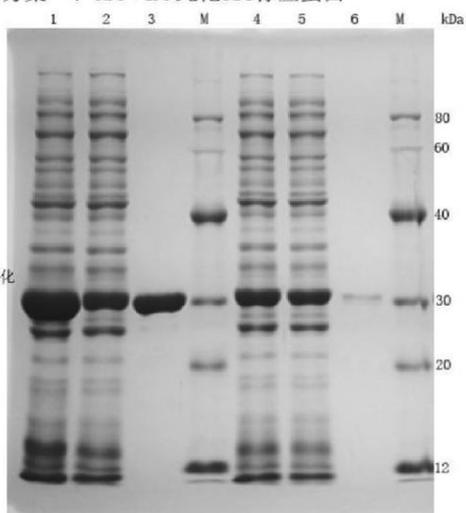
案例一



方案一、GST 4FF纯化GST标签蛋白

- 1: 原液
- 2: 流穿
- 3: 洗脱 (稀释到1.0mg/ml)
- 4: 原液*
- 5: 流穿*
- 6: 洗脱*

说明:
1-3是第一次纯化
4-6是将第一次纯化流穿再次上样纯化



4. 常见问题

表2: 常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	1.上样量过载	降低上样量
	2.上样速度过快	降低上样流速
	3.蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质或更换新的介质
	4.样品在超声裂解过程中失活	采用较为温和的条件进行超声裂解
	5.样本或平衡液中pH不在正确的范围	保证样本和平衡液pH在6.5-8.0以内
	6.表达条件过于剧烈,目标物构象发生改变,不能与介质结合	建议做一个空载体作为表达和纯化的对照
	7.目标物质发生聚集	在裂解前加入1-10mM DTT
洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物	1.目标物没有与介质结合或结合量较少	先确认目标物是否与介质结合
	2.洗脱条件不合适	加大GSH浓度到20-40mM, 并保证洗脱液pH在8.0-9.0以内
	3.洗脱时间不够	降低流速, 延长洗脱液的保留时间
	4.洗脱体积过小	加大洗脱体积
	5.目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀	检测目标物在洗脱液条件(pH)下的溶解度和稳定性。可以尝试在洗脱液中加入一些添加剂: 如0.1% Triton X-100 或 2% N-octyl glucoside
目标物纯度较低	1.样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	2.样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品, 降低粘度。
	3.洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4.杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5.洗脱条件不佳, 洗脱速度太快、梯度太陡。	调整洗脱条件
	6.目标物出现降解	检测目标物的稳定性
	7.柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	8.杂质出现非特异性吸附	适当选择添加剂降低非特异性吸附
	9.分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	10.介质中有微生物生长	介质使用完后, 请及时正确保存介质
介质载量下降	1.上样速度过快	降低上样流速

	2.蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降。	及时清洗介质
	3.使用次数过多，配基被氧化或脱落	及时清洗介质或更换新介质
	4.样品在超声裂解或表达时构象改变，不能较好的与配基结合	采用温和的裂解方式或表达条件
色谱峰上升缓慢	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2.蛋白沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性和介质的结合效率
	3.分离柱中微生物生长	所用试剂必须经过过滤和脱气；样品上柱前必须离心或过滤

5. 订购信息

表3: 订购信息表

产品	规格(ml)	货号
GST 4FF	25	HZ1008-2
GST 4FF	100	HZ1008-2
GST 4FF	500	HZ1008-2
GST 4FF	1000	HZ1008-2