

免费服务专线:4000-855-868 网站:www.mdbio.com.cn 电子邮件:mdbio@mdbio.com.cn

产品名称 & 产品编号

产品名称: GST pull-down Kit

产品编号: KT012-6

产品介绍

GST Pull-Down 实验基于 GST (glutathione-S-transferase), 即谷胱甘肽-S-转移酶蛋白, 可以与谷胱甘肽 (Glutathione,GSH) 结合, 将 GSH 固定于磁珠上, 形成 GSH-磁珠, 将已知蛋白 X 与 GST 融合表达, 获得的 GST-X 蛋白可与 GSH-磁珠结合, 若体系中存在与 X 蛋白互作的蛋白 Y, 则会形成“磁珠-GSH-GST-X-Y”复合物, 与 X 蛋白互作的蛋白即可被分离并检测。

产品内容

产品组成	产品规格	保存条件
<i>Binding buffer</i>	10ml	常温
<i>Glutathione MagBeads</i>	200ul	4 度
<i>10%BSA</i>	500ul	-20 度

运输条件

4 度运输, 按照各组分的条件分别保存。

操作步骤：（在开始操作前请先阅读注意事项）

1. 蛋白诱导表达及纯化。
2. 融合蛋白固定上 *Glutathione MagBeads*，选取一个纯化好的蛋白 20ul，加到洗好后的重悬于 0.1ml Binding buffer 的 *Glutathione MagBeads* 中，于 4 度孵育 30min，而后静置待 *Glutathione MagBeads* 沉降于离心管管底后，小心移去上清，用 0.25ml Binding buffer 清洗两次 *Glutathione MagBeads*，每次 5min，最后用 20ul Binding buffer 重悬 *Glutathione MagBeads*。
3. 捕获猎物蛋白，取 5ul 固定好蛋白的 *Glutathione MagBeads*，加入 20ul 制备好的猎物蛋白，再加入 20ul 10%BSA 和 155ul Binding buffer,4 度旋转孵育 1h，而后静置待 *Glutathione MagBeads* 沉降于离心管管底后，小心移去上清，再用 0.5ml Binding buffer 清洗 *Glutathione MagBeads* 两次，每次 5min。
4. Western Blot 分析：加 20ul SDS-PAGE loading buffer 于洗好的 *Glutathione MagBeads* 中，混合 5min，沸水煮 8-10min，取上清进行检测。
5. 以上步骤的蛋白量及 *Glutathione MagBeads* 量可根据实验的实际需要酌情增加。

注意事项

- 1 试剂盒内各组分请根据标签温度保存，部分组分需要避光保存。
- 2 避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。
- 3 样品保存时间不宜过久，新鲜的样本有利于实验的成功。
- 4 请勿干燥或剧烈涡旋磁珠，禁止长时间置于磁场，这些操作可能会引起磁珠聚团，降低结合活性。
- 5 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。