

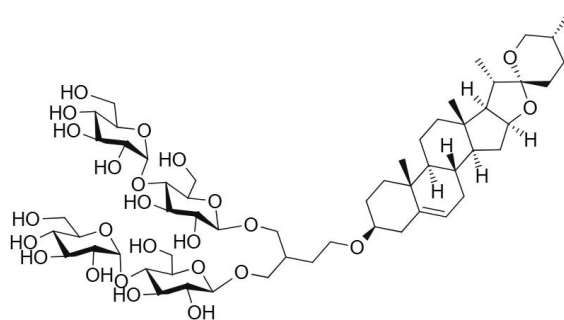
产品使用说明书

GDN(糖醇素)

货号: GDN01, GDN02, GDN03, GDN04

产品参数

CAS 号	1402423-29-3
分子式	C ₅₆ H ₉₂ O ₂₅
分子量	1165.31
外观	白色或类白色固体
纯度	≥ 99 % (HPLC)
溶解性	水溶(≥ 5 %, 水中 20 °C)
临界胶束浓度(CMC)	~18 μM(H ₂ O, 约 0.0021 %)
pH	5-8(1% 水溶液)
电导	< 100 μS(5 % 水溶液)



产品描述

GDN (Glyco-Diosgenin, 糖基薯蓣皂苷元, 糖醇素) 是一种合成的非离子去垢剂, 由刚性甾体(diosgenin)疏水尾与二麦芽糖(dimaltose)亲水头基组成, 是 Digitonin 的合成型直接替代品。

与天然提取的 Digitonin 相比, GDN 为全合成生产, 无 digitoxin/digoxin 等毒性副产物残留, 无批间差异, 且具有更低的临界胶束浓度(CMC)和更优的水溶性。

产品用途

本品可满足多种膜蛋白研究需求, 包括但不限于以下使用场景:

- 膜蛋白的增溶、提取与纯化(Digitonin 直接替代品)
- 冷冻电镜(cryo-EM)单颗粒样品制备(GPCR、离子通道、转运体等)
- 脂立方相(in meso / LCP)结晶
- 膜蛋白溶液稳定性维持与功能研究

产品储存与运输

- 避光、干燥保存, 建议储存温度 -20 °C
- 常温运输
- 粉末状态稳定; 储液建议分装后 -80 °C 保存, 避免反复冻融

使用方法

GDN 母液配制 (10%w/v); 建议配制成 10%(100mg/mL) 的高浓度母液储存。

- 1) 过滤分装: 使用 0.22 μm 滤膜过滤, 按需分装, -80 °C 保存备用, 避免反复冻融。
- 2) 称量: 在通风干燥环境中迅速称取 LMNG 固体。
- 3) 溶解: 加入去离子水(或纯化缓冲液), 轻轻超声或冷室旋转摇晃至完全清澈。

实验方案

GDN 去垢剂体系提取 GPCR (以 A_{2A} 受体为例)

1. 实验材料

去垢剂: GDN、LMNG 和 CHS (Product Code: GND、LMN 和 CHS)

辅助试剂: Tris-HCl、HEPES、NaCl、MgCl₂、甘油、咪唑、蛋白酶抑制剂;

目标蛋白(示例)及其表达系统: A_{2A}受体(Expisf9 昆虫细胞);

关键耗材与设备: 0.22 μm 滤膜、TALON IMAC 树脂、高速冷冻离心机。

2. 去垢剂溶液配制

称取 0.5 g GDN 粉末, 加入 9 mL 200 mM Tris-HCl(pH 8.14), 配制成 5%(w/v)母液。每管加入 0.1g 即 1% CHS, 超声溶解至透明无色, 定容至 10 mL, 经 0.22 μm 滤膜过滤后于 -80 °C 保存备用。

3. GPCR 表达与膜制备

- 1) 采用 Bac-to-Bac 系统构建 A_{2A}R 受体重组杆状病毒, 感染 50 mL Expisf9 细胞。
- 2) 收集细胞沉淀, 置于室温解冻, 重悬于低盐缓冲液(10 mM HEPES pH7.4、10 mM MgCl₂、20 mM KCl + 蛋白酶抑制剂), 4 °C、35000 rpm 高速离心 30 min, 收集细胞膜沉淀。
- 3) 再次重悬于高盐缓冲液(低盐缓冲液+1M NaCl)中, 4 °C、35000 rpm 高速离心 30 min, 收集细胞膜沉淀。

4. 膜蛋白提取与纯化

- 1) 膜重悬与破碎: 细胞膜沉淀用含 20 mM HEPES (pH7.4)、100 mM NaCl、5 mM MgCl₂、5 mM CaCl₂ 及蛋白酶抑制剂的缓冲液重悬, Dounce 破碎均匀后分装为两管, 每管体积为 1mL。
- 2) 溶膜处理: 加入 LMNG/GDN/CHS 工作液, 4 °C 旋转孵育 2.5 h 进行膜蛋白溶解。
- 3) 澄清与结合: 15000 rpm 离心 30 min, 收集上清; 取 40 μL TALON IMAC 树脂 (1 CV=20 μL) 及含 20mM 咪唑的溶液与上清在 4 °C 过夜孵育结合。
- 4) 洗杂与洗脱:
洗杂: 使用 20 CV 含 20 mM HEPES (pH7.4)、150 mM NaCl、30/40 mM 咪唑, 0.05% LMNG, 0.01%CHS 的缓冲液梯度洗涤。
洗脱: 再使用 10 CV 含 20 mM HEPES (pH7.4)、150 mM NaCl、125 mM 咪唑及 0.01% LMNG, 0.002%CHS 的缓冲液洗脱目的蛋白。

注意事项

1. 为了确保操作人员的安全与健康, 实验全过程请务必穿戴实验服并佩戴一次性手套。
2. 本品所附带的部分产品技术信息仅供客户参考、学术交流与科学研究之用; 我司不对所提供信息的绝对权威性与完整性作担保。
3. 本品仅供科学研究使用, 严禁用于临床诊断、治疗、食品及药品等任何人体相关用途, 禁止存放于普通住宅。
4. 维持去垢剂浓度高于 CMC: 使用时请确保体系中 GDN 的终浓度高于其临界胶束浓度(CMC~0.0021% w/v, 约 18 μM)。纯化洗涤、洗脱及后续样品储存过程中, 建议将 GDN 维持在 0.005%–0.02% (w/v); 浓度一旦低于 CMC, 胶束解体可能导致膜蛋白变性或聚集沉淀。
5. 浓缩时注意去垢剂富集: GDN 胶束聚合数较大(胶束分子量约 100–150 kDa), 使用 50 kDa 或 100 kDa MWCO 超滤浓缩管时, GDN 会随目标蛋白一同被浓缩。因此洗脱液及制样缓冲液中的 GDN 终浓度建议控制在 0.005%–0.02%(必要时低至 0.005%), 浓缩倍数不宜过大; 去垢剂过度富集会干扰冷冻电镜制样(游离胶束背景深、颗粒取向差、冰层异常)及结晶实验。
6. 低温浑浊属正常物理析出: 本品溶解性于室温下测定, 温度过低可能影响溶解。4 °C 或冰浴条件下, 高浓度 GDN 母液可能出现轻微浑浊或微量沉淀, 为正常物理析出; 使用前将母液回温至室温(或 25–30 °C 水浴), 轻微超声或混匀至溶液完全清亮后再稀释加入体系。