



Con A Beads 4FF 重力柱

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 在位清洗.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

Con A Beads 4FF 是一种将伴刀豆球蛋白 A (简称 Con A) 与琼脂糖偶联, 纯化一些糖蛋白的亲层析介质。配体 Con A 是从巨豆 (Jack bean, *Canavalia ensiformis*) 中分离出来的一种植物血凝素, 能与含有 α -D-吡喃甘露糖基、 α -D-吡喃葡萄糖基以及与其空间位置相关的分子基团的结合。Con A 与糖类分子结合主要在 C-3、C-4 及 C-6 的羟基部分。Con A 与 D-吡喃甘露糖的结合比与 D-吡喃葡萄糖要强些。Con A Beads 4FF 主要用来分离和纯化一些糖蛋白、膜蛋白、糖脂、多糖、带甘露糖苷或葡萄糖苷残基的膜囊泡、IgM、激素脂蛋白等。例如人血清中胰蛋白酶抑制剂、碱性磷酸酯酶、小牛脾磷酸二酯酶、不同变种的甲胎球蛋白和某些激素如绒毛膜促性腺激素 (HCG)、促黄体激素 (LH) 等物质都可以用它纯化。Con A Beads 4FF 应用范围广, 具体性能见表 1。

Con A Beads 4FF 重力柱以 Con A Beads 4FF 为装填材料, 提供 1 ml 和 5 ml 两种规格产品, 方便客户使用, 操作简单, 纯化效率高。

表 1. Con A Beads 4FF 产品性能

项目	性能
基质	高度交联的 4%琼脂糖凝胶
配体	Con A
载量	>20 mg 甲状腺球蛋白/ml 基质
微球粒径	45-165 μ m
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	4-9
储存缓冲液	0.1 M NaAc, 1 M NaCl, 1 mM CaCl ₂ , 1 mM MnCl ₂ , 20%乙醇, pH6.0
储存温度	2-8 $^{\circ}$ C

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

缓冲液在使用前最好用 0.22 μ m 或者 0.45 μ m 滤膜过滤。

Con A Beads 4FF 在缓冲液 pH 小于 5.0 时, 必须添加 Mn^{2+} 和 Ca^{2+} 以保证吸附活性。我们推荐使用以下缓冲液纯化。

平衡/洗杂液: 20 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MnCl₂, pH7.4

洗脱液: 20 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MnCl₂, 0.1-0.2 M α -D-甲基甘露糖苷或 α -D-甲基葡萄糖苷, pH7.4

注: 洗脱液中 α -D-甲基甘露糖苷或 α -D-甲基葡萄糖苷浓度可根据物质吸附能力进行线性或梯度洗脱。甘露糖和葡萄糖亦可以做洗脱物质, 但洗脱能力较弱。

结合能力较强的物质可采用降低洗脱液 pH 洗脱, 但不要低于 pH4.0。

可采用硼酸盐作为洗脱液, 如 0.1 M 硼酸盐, pH6.5。

2.2 样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 可以用平衡/洗杂液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释, 或者样品用平衡/洗杂液透析。

样品在上样前建议离心或用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤, 减少杂质, 提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

2.3 样品纯化

Con A Beads 4FF 重力柱使用请参考以下说明, 各溶液用量均按照柱体积计算 (例如: 2 个柱体积, 1 ml 规格对应为 2 ml 溶液, 5 ml 规格对应为 10 ml 溶液)。整个纯化流程大约需要 30 min (主要取决于样品体积和溶液的粘稠性), 操作快捷。使用流程请参考图 1。

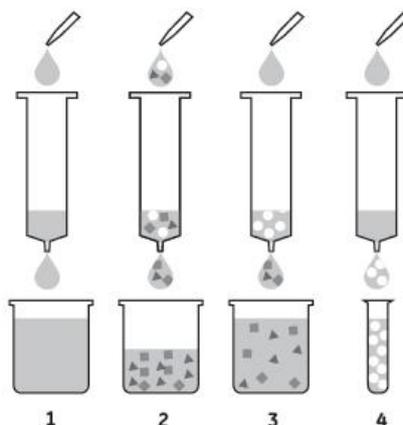


图 1. 使用 Con A Beads 4FF 重力柱纯化蛋白流程示意图

Step 1: 柱子平衡; Step 2: 上样; Step 3: 洗杂; Step 4: 洗脱

- 1) 将 **Con A Beads 4FF 重力柱** 固定在铁架台上，先后打开上盖、下盖，依靠重力流干保护液。
- 2) 向柱管中加入 5 个柱体积的平衡液，进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下，起到保护蛋白的作用。
- 3) 将样品加到平衡好的重力柱中，样品保留时间至少 2 min，保证目的蛋白与介质充分接触，提高目的蛋白的回收率。收集流出液，用于 SDS-PAGE 分析蛋白质的结合情况，在出现问题时，更方便寻找解决问题的方案。
- 4) 用 10-15 倍柱体积的洗杂液进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 5) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液进行目的蛋白的洗脱，分段收集，每一个柱体积收集一管，分别检测，既可以保证所有结合的目的蛋白被洗脱，又可以得到高纯度和高浓度的蛋白。
- 6) 依次使用 3 倍柱体积的平衡液和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料。将重力柱保存在等体积的 20%乙醇中，置于 2-8℃ 保存，防止填料被细菌污染。

2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 在位清洗

Con A Beads 4FF 纯化产品可以重复使用而无需再生，但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，这时可按照下面方法对介质进行清洗。

用 3-4 倍柱体积的含有 0.5M NaCl 的 pH8.5 或 pH4.5 的缓冲液清洗，然后立即用 5 倍柱体积的结合液平衡。

结合力较强物质的去除

用 2 倍柱体积的含 1% Triton™ X-100, pH6.5 的 0.1 M 硼酸盐缓冲液清洗，或 20%乙醇或 50%乙二醇溶液清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH7.4 清洗。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Con A Beads 4FF 重力柱	SA028GC01	1 ml
	SA028GC05	5 ml