



Con A 琼脂糖凝胶 4B

1 简介

本产品将伴刀豆球蛋白（Con A）偶联到交联及活化的琼脂糖凝胶上，该填料具有很高的化学稳定性。Con A能和各类带甘露醇及葡萄糖残基的糖、糖蛋白、糖脂，所以Con A琼脂糖凝胶可以用于这类物质的分离纯化。

2 亲和填料特性：

基质	4%的交联琼脂糖凝胶
配基密度	10-14mg Con A/mL填料
载量	15-25mg 甲状腺球蛋白/mL填料
亲和填料的颗粒大小	45-165 μ m
最大流速	75cm/h
pH范围	4-9
使用温度	4 $^{\circ}$ C~常温
保存温度	+4 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C
保存液体	20%乙醇

3 使用方法

Con A-琼脂糖凝胶 4B 对于不同的样品的亲和力不同，吸附载量取决于流速、pH、缓冲液组成和温度等参数。

3.1 装柱

- （1）让所有的材料和试剂均平衡至层析实验的温度。配制缓冲液，对所有的缓冲液进行脱气处理。
- （2）检查层析柱所有部件，特别是过滤网，密封圈，螺旋塞是否紧密，玻璃管是否干净和完整。
- （3）根据需要量取相应量的凝胶，用去离子水清洗掉 20%乙醇。
- （4）将柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位，务必使底端无气泡。
- （5）用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内，注意勿使产生气泡。打开柱子出液口，使凝胶在柱内自由沉降，连结好柱子顶端柱头。
- （6）打开蠕动泵，让缓冲液用使用时流速的 1.33 倍的流速流过，使柱床稳定（注意压力不要超过填料最大耐压）。

3.2 平衡色谱柱

上样前平衡层析柱至少 5-10 个柱体积直到记录仪基线变得平稳为止（流出液的 pH 值和电导值



等于上柱的 Buffer 的 pH 值和电导值)。

推荐的结合缓冲液是 10-30 mM Tris-HCl pH 7.4, 其中含有 0.5 M NaCl, 2mM 的 $MnCl_2$, 2mM 的 $CaCl_2$ 。

3.3 上样

(1) 样品用平衡液配制, 样品一定要离心或过滤后上样。

(2) 一般情况是让目标产品结合在柱子上, 用平衡液洗去杂质和没有结合的蛋白, 再选择一种洗脱液洗下目标产品。

3.4 洗脱

可以用 0.1-0.2M 的 α -D-甲基甘露糖苷类或 α -D-甲基葡萄糖苷类的糖竞争洗脱 (线性或阶梯梯度), 也可以通过降低 pH 值 (但不要低于 pH 值 4) 来洗脱。

4 再生

通过用 2-3 柱体积的含有 0.5M NaCl 的高 pH (8.5) 和低 pH (4.5) 缓冲溶液交替洗涤填料, 该循环应重复 3 次, 然后在结合缓冲液中重新平衡。

对于强吸附力的物质, 可以使用 0.1 M 硼酸盐缓冲液, pH 6.5, 低流速洗 5 个柱体积, 然后在结合缓冲液中重新平衡使用。

5 保存

2-8°C 密闭保存。使用完的填料, 用纯水彻底冲洗, 最后保存在 20% 乙醇中, 4°C 保存。

6 注意事项:

(1) 上样之前, 样品必须经过膜过滤及去除色素, 否则杂质及色素会被吸附到填料上, 影响填料的正常使用。所有的缓冲液均需要用 0.45um 的过滤器过滤。

(2) 在使用过程中, 避免使用高浓度的强酸强碱, 酸和碱的浓度应低于 0.1 摩尔。碱会使流速变慢。

(3) 不同的样品, 吸附和洗脱方法不相同, 可以根据相关的文献进行。