



此说明仅限参考

## 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 $\mu$ 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	4~8 $^{\circ}$ 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。

#### 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  $\text{CaCl}_2$ 。

### 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0.1-0.2 M的 $\alpha$ -D-甲基甘露糖苷类或 $\alpha$ -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。

## 3 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。

## 4 保存

4-8°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，4-8°C保存。

## 5 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0.45 $\mu\text{m}$ 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。

瑞达恒辉所有产品仅用作科学研究，不得用于其他用途！销售产品行为均适用于我司官网所列用户协议条款。