



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	Con A
配基密度	10-14mg Con A/mL填料
载量	20-35mg 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℃~常温
保存温度	+4~8℃
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达到室温。配制初始缓冲液 (平衡液) 和洗脱缓冲液。
- (2) 根据柱子大小取所需量的凝胶, 用去离子水清洗掉 20% 乙醇, 用初始缓冲液 (按凝胶: 缓冲液=3: 1 的比例) 配成匀浆。
- (3) 将柱内及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。
- (4) 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。打开柱子出口, 使凝胶在柱内自由沉降, 连结好柱子顶端柱头。



(5) 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)。

2.3.2 平衡色谱柱

用5-10个柱体积的结合缓冲液平衡该柱, 直到流出液电导和pH不变。

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。盐浓度太大的样品需要处理后再配。

(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。

2.3.4 洗脱

洗脱条件因样品而异, 洗脱缓冲液使用阶梯梯度或线性梯度洗脱。对于洗脱步骤, 5个柱体积的洗脱缓冲液通常就足够了。对于线性梯度洗脱, 适当增加洗脱步骤。

采用浓度梯度 (线性或阶梯) 来实现结合物质的洗脱。许多物质以0.1-0.2mM洗脱, 但对于更紧密结合的物质可能需要较高的浓度。

紧密结合的物质也可以通过降低pH (不低于pH 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。

4 保存

浓度20%乙醇溶液中保存。

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。
- 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。