



ConA 琼脂糖磁性微球

1 产品介绍

ConA 琼脂糖磁性微球 (ConA Magarose Beads) 是一种表面修饰 Concanavalin A (ConA) 的超顺磁性聚合物磁珠。ConA 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, 与糖类分子的结合位点结合主要在 C-3、C-4 及 C-6 的羟基部分。ConA 琼脂糖磁性微球主要用来分离和检测一些糖蛋白、膜蛋白、糖脂、多糖、带甘露糖或葡萄糖苷残基的膜囊泡、IgM、激素脂蛋白等, 所以可以用于膜生物标记的鉴定, 和细胞结合进行 CUT&RUN 或 CUT&Tag。具体性能见表 1。

表 1. ConA 琼脂糖磁性微球产品性能

项目	性能
基质	琼脂糖磁性微球
配体	Concanavalin A
载量	>3mg 伴清蛋白/ml 磁珠
体积	20%柱体积
微球粒径	50-70 μ m
储存缓冲液	0.1M 醋酸盐, 1M NaCl, 1mM CaCl ₂ , 1mM MnCl ₂ , 1mM MgCl 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。

平衡/洗杂液: 20mM Tris, 0.1M NaCl, 1mM CaCl₂, 1mM MgCl₂, 1mM MnCl₂, 0.1%Tween-20, pH7.4

洗脱液: 用平衡液配制 0.1-0.25M methyl α -D-mannose

2.2 样品准备

哺乳动物细胞质膜制备: 用含有 1mM CaCl₂、蛋白酶抑制剂和 50mM HEPES (pH7.4)的预冷溶液对样品进行切碎和匀浆。过滤后, 5000 \times g 离心 30 秒, 弃掉上清。膜碎片团块可以用平衡液均质重悬, 细胞质膜可以用蔗糖密度梯度离心进行分离。

- 1) 细胞质膜的制备: 收集细胞并在平衡液中均质。
- 2) 收集细胞, 用平衡液重悬。

2.3 样品纯化

2.3.1 磁珠准备

- 1) 将 ConA 琼脂糖磁性微球颠倒或漩涡混合均匀。
- 2) 取 100 μ l 的磁珠转移到新的干净的离心管中。放置在磁分离器上, 待溶液变澄清后, 用移液器吸弃保护液。
- 3) 将离心从磁分离器上取下来, 加入 1ml 平衡液, 混匀, 放置在磁分离器上, 收集磁珠, 用移液器吸弃保护液。重复洗 2 次。

2.3.2 目的样品分离

- 1) 向上一步骤平衡好的填料中加入 2.2 准备的样品, 悬浮填料, 室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管, 混合时间 1h。
- 2) 将离心管置于磁分离器上, 待磁珠全部吸附后, 吸弃上清液。如需要可将上清留做进一步检测。
- 3) 向磁珠中加入 200 μ l 洗杂液混合均匀, 置于磁分离器上, 待磁珠全部吸附后, 吸弃上清液。重复洗杂至少 3 次。

2.3.3 洗脱目的样品

- 1) 向磁珠中加入 50-100 μ l 洗脱液混合均匀, 室温下置于翻转混合仪或者手工轻轻翻转离心管, 时间 10min。
- 2) 将离心管置于磁分离器上, 待磁珠全部吸附后, 吸取上清液为目的样品。