



PreCap LCA

目录

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

1. 产品介绍

LCA Beads 4FF 是一种将小扁豆凝集素 (Lens Culinaris Agglutinin, 简称 LCA) 与琼脂糖偶联, 纯化一些糖蛋白的亲亲和层析介质。LCA 是从小扁豆中分离出来的一种金属蛋白, 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结合。**LCA 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。**LCA Beads 4FF** 应用范围广, 具体性能见表 1。

PreCap LCA 是一种中低压预装柱, 有 1 ml 和 5 ml 两种规格, 分别填装 1 ml 和 5 ml **LCA Beads 4FF**, 共有 5 种不同包装规格的产品。预装柱具有标准接口, 可以适配商品化的各类中低压色谱系统, 如 ÄKTA 等, 方便客户操作。

表 1. PreCap LCA 产品性能

性能	指标
基质	高度交联的 4% 琼脂糖微球
配体	Lens Culinaris Agglutinin
载量	> 13 mg 甲状腺球蛋白/ml 介质
粒径范围	45-165 μ m
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
储存缓冲液	150 mM NaCl, 1 mM CaCl ₂ , 1 mM MnCl ₂ , 20% 乙醇
储存温度	2-8 °C

2. 纯化流程

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

LCA 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, 0-0.5 M NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MnCl₂, pH 7.4

洗脱液: 20 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MnCl₂, 0.1 M-0.2 M α -D-甲基甘露糖苷或 α -D-甲基葡萄糖苷, pH 7.4

注: 1) 缓冲液配制原则是先溶解基础组分 (Tris+NaCl), 并调节 pH, 最后加入金属盐避免生成沉淀。以下是平衡/洗杂液详细配制方法。

步骤 1: 称取 20 mM Tris、0-0.5 M NaCl, 加水溶解, 使用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 7.4;

步骤 2: 向调节好 pH 的缓冲液中分别加入终浓度 1mM CaCl₂, 1mM MnCl₂, 混合均匀后, 使用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 滤膜过滤。

2) 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。

3) 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 pH3.0。也可采用硼酸盐作为洗脱液, 如 0.1 M 硼酸盐, pH6.5。

4) 对于强结合的蛋白, 可以在洗脱缓冲液中加入 1% 的脱氧胆酸钠或者其他去污剂, 以促进洗脱。

2.2 样品准备

上柱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

PreCap LCA 设计用于糖蛋白的亲亲和纯化, 可以用各种常规的中低压色谱系统, 以 ÄKTA 仪器使用为例介绍 **PreCap LCA** 使用方法。

1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子, 将层析柱连接至色谱系统中。再打开下口, 将预装柱接到色谱系统中, 并旋紧。

2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。

3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。

4) 利用泵或样品环上样。

注: 样品的粘度增加使得即使上样体积很少, 也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压, 使得进样器更难使用。





- 5) 用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积）。
- 6) 用 5-10 倍柱体积洗脱液洗脱。
- 7) 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，最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡，然后保存在 20% 的乙醇中，置于 2-8℃，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. 填料清洗

LCA 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填料进行清洗。

用 3-4 倍柱体积的含有 0.5 M NaCl 的 pH8.5 和 pH 4.5 的缓冲液交替清洗三次，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 0.1% Triton™ X-100，pH 6.5 的 0.1 M 硼酸盐缓冲液低流速清洗，也可用 20% 乙醇或最高 50% 乙二醇溶液清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
LCA Beads 4F	SA097005	5 ml
	SA097025	25 ml
	SA097100	100 ml
	SA097500	500 ml
	SA09701L	1 L
PreCap LCA	SA097C11	1×1 ml
	SA097C51	5×1 ml
	SA097C15	1×5 ml
	SA097C55	5×5 ml
	SA097CS	3×1 ml+1×5 ml

