HiSelect Smac LCA

目录

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

1. 产品介绍

Smac LCA 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。**Smac LCA** 主要用来分离和纯化一些糖蛋白、膜蛋白、糖脂、多糖、带甘露糖苷或葡糖苷残基的膜囊泡、IgM、激素脂蛋白等。

HiSelect Smac LCA 是一种中压预装柱，填装 4.7 ml 的 **Smac LCA** 介质。柱管由生物相容性聚丙烯制成，不与生物分子相互作用。柱管两头都有堵头，防止保护液的泄露。柱体标签上的箭头表示推荐的流向。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中压色谱系统，方便客户操作。

表 1. HiSelect Smac LCA 产品性能

性能	指标
规格	4.7 ml
柱尺寸（内径×高度）	0.77×10 cm
基质	高刚性琼脂糖微球
配体	Lens Culinaris Agglutinin
载量	15-20 mg 甲状腺球蛋白/ml 介质
平均粒径	70-80 μm
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℃

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

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

Smac LCA 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 $CaCl_2$，1 mM $MnCl_2$，pH7.4

洗脱液：20 mM Tris-HCl，0.5 M NaCl，1 mM $CaCl_2$，1 mM $MnCl_2$，0.1 M-0.2 M α-D-甲基甘露糖苷或α-D-甲基葡萄糖苷，pH7.4

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 $CaCl_2$，1mM $MnCl_2$，混合均匀后，使用 0.22 μm 或 0.45 μm 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 μm 或 0.45 μm 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

HiSelect Smac LCA 是一种亲和介质的预装柱产品，可以用各种常规的中低压色谱系统，下面详细介绍使用方法。

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，打开下出口，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储存缓冲液。

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) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱，收集洗脱液，即目的蛋白组分。
介质洗脱结束后，用平衡液冲洗 5-10 柱体积，然后用纯水冲洗 5-10 个柱体积，再用 20%乙醇冲洗 2 个柱体积，置于 2-8℃保存。

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. 填料清洗与保存

Smac LCA 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 pH4.5 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，pH6.5 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， pH7.4 清洗。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Smac LCA	SA127005	5 ml
	SA127025	25 ml
	SA127100	100 ml
	SA127500	500 ml
	SA12701L	1 L
	SA12710L	10 L
PreCap Smac LCA	SA127C11	1X1 mL
	SA127C51	5X1 mL
	SA127C15	1X5 mL
	SA127C55	5X5 mL
HiPur Smac LCA	SA127C20	1×20 ml
HiSelect Smac LCA	SA127C47	1×4.7 ml