



Con A Agarose Beads 4FF

货号: QS01044

目录

1. 产品概述	1
2. 技术参数	2
3. 产品特性	2
3.1 卓越的稳定性.....	2
3.2 高生物活性.....	2
3.3 优异的批次一致性.....	2
3.4 安全环保.....	2
4. 应用范围	2
5. 使用方法	3
5.2 装柱	3
5.3 上样	3
5.6 梯度洗脱（可选）	4
6. 再生与保存	4
6.1 柱再生	4
6.2 在位清洗（CIP）	4
6.3 长期保存.....	4
7. 注意事项	4
8. 常见问题解答	5
Q1: 为什么我的糖蛋白不能结合到柱子上?	5
Q2: 洗脱时没有蛋白峰出现?	5
Q3: 柱子压力升高, 流速变慢?	5
Q4: 配基泄漏率高怎么办?	5
9. 订购信息	5
免责声明	5

1. 产品概述

Con A Agarose Beads 4FF 是采用**化学偶联技术**将高纯度伴刀豆球蛋白 A（Concanavalin A, ConA）共价结合到高度交联的 4% 琼脂糖微球（Sepharose 4FF）上制备而成的亲和层析介质。

ConA 是一种来源于刀豆的四聚体金属蛋白, 能特异性识别并结合含有 α -D-甘露糖、 α -D-葡萄糖和 N - 乙酰葡萄糖胺残基的糖蛋白和糖脂。本产品通过形成稳定的酰胺键实现配基固定,



相比传统 CNBr 活化法，具有**配基泄漏率极低、稳定性高、活性保留好**等显著优势，是糖生物学研究和生物制药生产中糖蛋白纯化的金标准介质。

2. 技术参数

参数	指标
基质	高度交联 4% 琼脂糖凝胶（4FF）
配基	伴刀豆球蛋白 A（ConA）
典型结合载量	≥25mg 猪甲状腺球蛋白 /ml 沉降介质
粒径	40~165μm
最大耐压	0.3MPa（3bar）
pH 工作范围	4.0~9.0（短期）；5.0~8.0（长期）
化学稳定性	耐受 0.5M NaOH、1M NaCl、20% 乙醇、0.5M 尿素
保存条件	4°C 避光保存，不可冻存
有效期	18 个月（未开封）；12 个月（开封后正常使用）

3. 产品特性

3.1 卓越的稳定性

- 采用化学共价偶联，配基与基质结合牢固，长期使用和反复再生无明显配基脱落
- 可耐受 0.5M NaOH 在位清洗（CIP），有效去除微生物和残留蛋白
- 4°C 下保存 18 个月后结合载量保留率 > 95%

3.2 高生物活性

- 偶联过程在温和条件下进行，最大程度保留 ConA 的天然构象和糖结合活性
- 所有缓冲液均添加必需的 Ca²⁺ 和 Mn²⁺，确保 ConA 始终处于活性状态
- 结合载量显著高于传统 CNBr 活化法产品（>25mg vs >20mg 甲状腺球蛋白 /ml）

3.3 优异的批次一致性

- 严格控制活化和偶联工艺参数，批间配基密度差异 < 5%
- 每批产品均经过严格的结合载量和泄漏率检测
- 提供完整的批次分析报告（COA）

3.4 安全环保

- 生产过程不使用剧毒 CNBr，无残留风险
- 符合生物制药 GMP 级生产要求（可提供 GMP 级产品）

4. 应用范围

1. 糖蛋白的分离纯化

- 重组糖蛋白（如抗体、酶、激素）的纯化
- 血清、血浆、细胞培养上清中天然糖蛋白的分离
- 膜糖蛋白和糖脂的提取纯化

2. 糖基化分析



- 糖蛋白糖型分析的样品前处理
- 不同糖基化修饰蛋白的分离
- 糖基转移酶和糖苷酶的活性测定

3. 细胞生物学研究

- 表面表达特定糖链的细胞分离和富集
- 细胞表面糖蛋白的定位和功能研究
- 细胞凝集实验

4. 其他应用

- 酶的固定化
- 多糖和糖复合物的分离
- 病毒和细菌的纯化

5. 使用方法

5.1 准备工作

- **结合缓冲液**: 20mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 1mM CaCl₂, 1mM MnCl₂, pH 7.4
- **洗涤缓冲液**: 同结合缓冲液
- **洗脱缓冲液**: 结合缓冲液 + 0.5M 甲基 - α -D - 甘露糖苷 (或甲基 - α -D - 葡萄糖苷), pH 7.4
- **再生缓冲液 A**: 100mM 醋酸钠, 500mM NaCl, 1mM CaCl₂, 1mM MnCl₂, pH 4.0
- **再生缓冲液 B**: 100mM Tris-HCl, 500mM NaCl, 1mM CaCl₂, 1mM MnCl₂, pH 8.5

△ **重要提示**: 所有缓冲液中必须添加 1mM CaCl₂和 1mM MnCl₂, 绝对禁止使用磷酸盐缓冲液 (磷酸盐会螯合金属离子导致 ConA 不可逆失活)。

5.2 装柱

1. 将 Con A Agarose Beads 4FF 从 4°C冰箱取出, 室温平衡 30 分钟
2. 轻轻摇匀凝胶悬液, 用宽口移液管将凝胶缓慢倒入垂直固定的空层析柱中
3. 打开柱下端出口, 让凝胶自然沉降, 直至柱床高度稳定
4. 连接层析系统, 用 3 倍柱体积的结合缓冲液以 100cm/h 的流速平衡柱子
5. 检查柱床是否均匀, 如有气泡或断层, 需重新装柱

5.3 上样

1. 将样品用结合缓冲液透析或稀释至电导率与结合缓冲液一致
2. 样品经 0.22 μ m 滤膜过滤, 去除颗粒性杂质
3. 以 50~100cm/h 的流速上样, 上样量不超过介质最大结合载量的 80%
4. 收集穿透峰, 测定 280nm 吸光度, 监测样品穿透情况

5.4 洗涤

1. 上样结束后, 用结合缓冲液继续洗涤柱子
2. 洗涤至紫外吸收值回到基线 ($A_{280}<0.01$), 表明未结合的杂蛋白已被完全去除

5.5 洗脱

1. 改用洗脱缓冲液以 50cm/h 的流速洗脱结合的糖蛋白
2. 分步收集洗脱峰, 每管收集 1~2ml



3. 当紫外吸收值回到基线后，停止洗脱
4. 洗脱的糖蛋白应立即透析或稀释，去除高浓度的甲基 - α -D - 甘露糖苷

5.6 梯度洗脱（可选）

对于结合强度不同的糖蛋白，可采用 0~0.5M 甲基 - α -D - 甘露糖苷线性梯度洗脱，实现更好的分离效果。

6. 再生与保存

6.1 柱再生

每次使用后，必须对柱子进行再生处理，以去除强结合的杂质，恢复介质的结合能力：

1. 用 3 倍柱体积的再生缓冲液 A 洗涤柱子
2. 再用 3 倍柱体积的再生缓冲液 B 洗涤柱子
3. 重复上述步骤 3 次（共 6 次洗涤）
4. 最后用 5 倍柱体积的结合缓冲液平衡柱子，即可进行下一次使用

6.2 在位清洗（CIP）

当柱子出现压力升高、流速下降或结合载量明显降低时，需进行在位清洗：

1. 用 3 倍柱体积的 0.5M NaOH 溶液以 50cm/h 的流速冲洗柱子
2. 室温下浸泡 30 分钟
3. 用 10 倍柱体积的去离子水冲洗至中性
4. 用 5 倍柱体积的结合缓冲液平衡柱子

△ 注意：在位清洗频率不应超过每月 1 次，过度清洗会导致 ConA 活性下降。

6.3 长期保存

1. 柱子使用完毕后，用 5 倍柱体积的保存缓冲液（20mM Tris-HCl，150mM NaCl，1mM CaCl₂，1mM MnCl₂，20% 乙醇，pH 7.4）洗涤柱子
2. 关闭柱两端的出口，4°C 下垂直保存
3. 定期检查保存液是否有浑浊或微生物污染，如有污染应立即丢弃
4. 长期不用时，应每 3 个月更换一次保存液

7. 注意事项

1. **金属离子保护：**ConA 的糖结合活性严格依赖 Ca²⁺和 Mn²⁺，所有操作中都不能使用 EDTA、EGTA 等螯合剂。如果样品中含有螯合剂，必须先透析去除。
2. **pH 范围：**ConA 在 pH<5.6 时会解离为二聚体，但仍保留结合能力；在 pH>9.0 时会发生不可逆变性。
3. **避免干涸：**介质在任何时候都不能干涸，否则会导致微球结构破坏和 ConA 失活。
4. **防止冻结：**介质不可冻存，冻结会导致琼脂糖微球破裂，影响层析效果。
5. **流速控制：**最大流速不应超过 150cm/h，过高的流速会导致柱压升高和微球破碎。
6. **样品处理：**上样前必须过滤样品，去除颗粒性杂质，防止堵塞柱子。
7. **安全操作：**虽然本产品不含有毒物质，但操作时仍应佩戴手套和护目镜，避免接触皮肤和眼睛。



8. 常见问题解答

Q1: 为什么我的糖蛋白不能结合到柱子上?

A1: 可能的原因及解决方法:

- 缓冲液中缺少 Ca^{2+} 或 Mn^{2+} : 确保所有缓冲液中都添加了 1mM CaCl_2 和 1mM MnCl_2
- 使用了磷酸盐缓冲液: 立即更换为 Tris-HCl 或 HEPES 缓冲液
- 样品 pH 值过低或过高: 调整样品 pH 至 7.0~7.4
- 样品中含有螯合剂: 对样品进行透析, 去除 EDTA 等螯合剂
- 糖蛋白不含 ConA 识别的糖链: ConA 只识别高甘露糖型和杂合型糖链, 不识别复杂型糖链

Q2: 洗脱时没有蛋白峰出现?

A2: 可能的原因及解决方法:

- 洗脱液中甲基 $-\alpha\text{-D}$ - 甘露糖苷浓度过低: 提高浓度至 0.5~1.0M
- 洗脱流速过快: 降低洗脱流速至 30~50cm/h
- 蛋白结合过强: 可尝试在洗脱液中加入 0.5M NaCl 或提高温度至 37°C
- 柱子再生不充分: 按照再生步骤重新处理柱子

Q3: 柱子压力升高, 流速变慢?

A3: 可能的原因及解决方法:

- 样品中有颗粒性杂质: 上样前必须用 0.22 μm 滤膜过滤样品
- 柱子中有微生物污染: 进行在位清洗 (0.5M NaOH)
- 介质发生沉降压实: 倒出凝胶, 重新装柱
- 柱头滤膜堵塞: 更换柱头滤膜

Q4: 配基泄漏率高怎么办?

A4: 可能的原因及解决方法:

- 检查是否使用了过高的 pH 或过强的变性剂
- 减少在位清洗的频率和时间
- 如果泄漏率持续升高, 说明介质已失效, 应更换新的介质

9. 订购信息

货号	产品名称	规格	保存条件
QS01044-10	Con A Agarose Beads 4FF	10ml	4°C避光
QS01044-25	Con A Agarose Beads 4FF	25ml	4°C避光
QS01044-100	Con A Agarose Beads 4FF	100ml	4°C避光

联系方式:

- 电话: 17302508337 (微信同号)
- 网址: www.qianzhusong.com
- 地址: 江苏省镇江市扬中市 XX 工业园区 XX 号

免责声明



本产品仅供科研使用，不得用于人体诊断、治疗或任何商业用途。本公司对因使用本产品而导致的任何直接或间接损失不承担责任。用户在使用本产品前应仔细阅读本手册，并严格按照操作规程进行操作。

本手册内容如有更新，恕不另行通知，最新版本请访问本公司官网查询。