

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

扁豆凝集素 (LCA) 磁珠 Magrose Beads LCA

产品描述

TargetMol 扁豆凝集素 (LCA) 磁珠是将来源于小扁豆 (*Lens culinaris*) 种子的扁豆凝集素 (*Lens culinaris agglutinin*, LCA) 通过稳定偶联工艺固定于琼脂糖磁性载体表面制备而成的一种亲和分离产品。LCA 属于金属结合型凝集素蛋白, 由两个约 17 kDa 的大亚基和两个约 8 kDa 的小亚基组成, 总分子量约 49 kDa, 在适宜离子条件下可特异性识别并结合含有 α -D-甘露糖、 α -D-葡萄糖及其空间相关糖基结构的糖基化分子, 因此在糖蛋白分离纯化与功能研究中具有重要应用价值。

本产品利用凝集素与糖链之间可逆且高特异性的亲和作用, 可用于从血清、细胞或组织裂解液中富集和纯化糖蛋白、膜糖蛋白及其它糖基化修饰分子, 同时也适用于糖基化修饰分析及相关生物学研究。磁珠具备磁响应迅速、结合容量高、重复性好及操作便捷等特点, 在分离过程中无需离心或柱层析, 仅需借助磁力架即可实现目标分子的快速捕获与分离, 有助于显著简化实验流程并提高分离效率与纯度。

TargetMol LCA 磁珠具有良好的稳定性和生物相容性, 适用于蛋白组学研究、细胞生物学、糖生物学及药物作用机制研究等多种科研应用场景, 可为糖蛋白富集与分析提供高效可靠的磁性亲和分离解决方案。

产品特点

- 非特异性吸附低
- 高效率、高产量、低消耗
- 操作灵活、简便
- 实验结果可靠、重复性高

产品信息

扁豆凝集素 (LCA) 磁珠	特性
基质	高度交联的 4%琼脂糖磁珠
配体	小扁豆凝集素
粒径	30-150 μ m
载量 ^a	\geq 13 mg 甲状腺球蛋白/mL 介质
保存溶液	20% 乙醇, 150 mM NaCl, 1 mM CaCl ₂ , 1 mM MnCl ₂
浓度 ^b	10% (V/V)

注:

a) 磁珠蛋白结合量与目标蛋白特性相关, 此处仅做参考值。

b) 1 mL 磁珠悬液中含有 100 μ L 磁珠。

产品应用

适用于分离和纯化糖蛋白、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。

操作说明

1. 缓冲液准备

以下为常用的缓冲液成分，使用时可根据需要进行调整。缓冲液在使用前最好使用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤除菌。

- 1) 结合缓冲液 Binding Buffer: 20 mM Tris-HCl, 0-0.5 M NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MnCl₂, pH 7.4。
- 2) 洗脱缓冲液 Elution Buffer: 20 mM Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MnCl₂, 0.1-1.0 M α-D-甲基甘露糖苷或α-D-甲基葡萄糖苷, pH 7.4。

注:

- 1) 洗脱液中α-D-甲基甘露糖苷或α-D-甲基葡萄糖苷的使用浓度可根据目标蛋白与磁珠之间的结合强度进行适当优化调整。
- 2) 甘露糖或葡萄糖同样可作为竞争性洗脱剂使用，但其洗脱效率通常相对较低。
- 3) 对于结合较为牢固的蛋白，可通过适当降低洗脱液的 pH 值实现洗脱，但一般不建议低于 pH 3.0。
- 4) 亦可选用硼酸盐缓冲体系作为洗脱液，例如 0.1 M 硼酸盐缓冲液 (pH 6.5)。
- 5) 针对高亲和力结合的蛋白，可在洗脱缓冲液中加入约 1%脱氧胆酸盐或其他去污剂（如 SDS）以增强洗脱效果。

2. 纯化步骤

- 1) 取约 200 μL LCA 磁珠悬液 (10% V/V) 加入至 1.5 mL 离心管中，将离心管放入磁性分离器，静置 1 min，进行磁性分离，吸去上清液，取下离心管。
- 2) 向磁珠中加入 1000 μL Binding Buffer，轻轻上下颠倒混匀使磁珠充分重悬，随后置于旋转或垂直混匀仪上在室温条件下混匀约 5 min。再次进行磁性分离并去除上清。重复洗涤步骤 3 次。
- 3) 加入 1000 μL 含目标蛋白的样品溶液，轻柔混匀使磁珠均匀分散后，在室温下置于混匀仪中孵育 30-45 min（具体结合时间可根据目标蛋白的结合速度适当优化）。
- 4) 孵育结束后，将离心管放入磁性分离器进行分离，收集上清并检测目标蛋白浓度，以评估结合情况。
- 5) 向磁珠中再次加入 1000 μL Binding Buffer，重悬后在室温下混匀约 5 min，随后进行磁性分离并去除上清。重复洗涤步骤 3 次，以降低非特异性结合。
- 6) 向磁珠中加入约 500 μL Elution Buffer，轻轻混匀使磁珠完全悬浮，在室温条件下孵育 30-45 min（洗脱时间可根据目标蛋白的结合速度适当优化）。孵育完成后进行磁性分离，收集上清并测定目标蛋白浓度。

保存条件

4°C, 2 年。

注意事项

1. 避免对磁珠进行冷冻、干燥和高速离心等操作。
2. 为了减少磁珠的损失，每次磁性分离的时间不应少于 1 min。
3. 从磁珠保存管中取出磁珠之前，应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
4. 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管，以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
5. 磁珠与溶液混合过程中，如果溶液粘稠导致翻转离心管无法重悬磁珠，可以使用移液器吹打或瞬时漩涡混合，使磁珠充分重悬。
6. 用户可以根据实际需求保留经磁性分离后移去的上清液，并进行取样检测，以便分析纯化过程并优化蛋白纯化流程。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

